

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL II**



**TESIS DOCTORAL**

**Ecofisiología y diversidad molecular de los  
líquenes neuropogonoides del género *Usnea*  
en Tierra del Fuego y la Antártida marítima**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

**Clara Laguna Defior**

DIRECTORES

**Ana Pintado Valverde  
Leopoldo García Sancho**

**Madrid, 2017**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**Facultad de Farmacia**

**Departamento de Biología Vegetal II**



**Ecofisiología y diversidad molecular de los  
líquenes neuropogonoides del género *Usnea* en  
Tierra del Fuego y la Antártida marítima.**

**MEMORIA DE TESIS DOCTORAL**

**PRESENTADA POR**

**CLARA LAGUNA DEFIOR**

-

Dirigida por los doctores

Ana Pintado Valverde y Leopoldo García Sancho



Don Leopoldo García Sancho, Doctor en Ciencias Biológicas y Catedrático de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid y Dña. Ana Pintado Valverde, Doctora en Farmacia y Profesor Contratado Doctor del Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid informan de que:

La memoria titulada “Diversidad molecular y ecofisiología de los líquenes neuropogonoides del género *Usnea* en la Antártida marítima y Tierra del Fuego” que presenta Clara Laguna Defior, Licenciada en Biología, para optar al Grado de Doctor, ha sido realizada en el Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la UCM bajo su dirección, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de tesis doctoral.

Madrid 7 de Junio de 2016

Fdo.: Ana Pintado Valverde

Fdo.: Leopoldo García Sancho



## Agradecimientos

Esta tesis ha supuesto un largo viaje en muchos sentidos, y no podría concluirla sin agradecer a todas las personas me han acompañado en las distintas etapas.

Gracias a mis directores, Ana y Leo, por darme la oportunidad de participar un proyecto que desde el primer momento me apasionó: *“Gradientes ambientales en ecosistemas terrestres antárticos. Cambios en diversidad y productividad en comunidades vegetales desde Tierra del Fuego hasta las Montañas Transantárticas”* (CTM2009-12838-C04-01).

Thanks Allan, for giving your wise advice and for being always available to discuss any results. Your dedication to science is inspiring, and I could never thank enough your generosity and help.

Thanks to Christian Printzen, for accepting me in your institute and providing all the facilities for the molecular studies, and to Heike for her support in Senkenberg laboratory.

Gracias a Ricardo y Pancha, por acogerme en Puerto Williams durante mis estancias en Chile, y por compartir la gran labor científica y divulgativa que estáis realizando mediante la Fundación Omora.

Gracias a todo el equipo de la BAE JCI, del buque las Palmas y del Hespérides de la Campaña Antártica 2011-2012, por todo el apoyo logístico y por el compañerismo en nuestro periplo por los confines del sur; y a mi compañero de viajes y trabajo de campo, Chema.

Mer. Gracias por tu ayuda en mis primeros pasos por el departamento y en el laboratorio, por tu cariño, tu disponibilidad y tu paciencia. Sin tu orientación y experiencia habría estado totalmente perdida con las cubetas, ajustes y asuntos ecofisiológicos varios.

Pepe. Gracias por todos los consejos, por interesarte por mis trabajos, por orientarme con las referencias, y sobre todo gracias por tu tesis que ha sido una gran inspiración y mi libro de cabecera en el último año. Espero que no perdamos las buenas costumbres y sigamos compartiendo buenos ratos, dudas filosóficas, ideas, música y novelas.

Bea. Gracias por tus consejos, en directo o internacionales vía Skype, siempre accesible y resolutiva para mis dudas genéticas, burocráticas o de cualquier tipo.

María. Gracias por tu asesoramiento en ese primer viaje de campo crucial y maravilloso a Navarino, y por tus consejos durante todo el proceso. Compañera de aventuras y desventuras, de bosques, de biblioteca. Artesana de las ciencias. Tu actitud apasionada en el trabajo es contagiosa, por suerte en los momentos clave te he tenido cerca.

José Antonio. Gracias por tu ayuda con los primeros análisis. Tú supiste encontrar la belleza en mis datos cuando todo era caos, y enseñarme un poquito del complicado mundo de los análisis. Espero que te guste el resultado final.

Guillermo. Gracias por tus revisiones, por tus consejos, por tus comentarios siempre positivos, por sacar tiempo de donde no lo tenías para ayudarme, por estar siempre disponible para mis dudas moleculares y existenciales. Qué razón tenías cuando me dijiste que esto era cuestión de picar piedra. Espero que nuestros esfuerzos sigan dando frutos por más tiempo.

Alberto. Gracias por haber dedicado tu tiempo y tus conocimientos para hacerme los mapas que han contribuido a que este trabajo esté más completo. Han quedado mucho mejor de lo que yo habría podido imaginar.

Jovi. Te paso el relevo. Tú puedes con esto y con todo lo que te propongas, ¡animo!

A todos los botánicos frikis del departamento, ya he nombrado a unos cuantos, pero esta lista es infinita. Vosotros sabéis quienes sois y que os quiero un montón. Por todo el apoyo y los buenos ratos en la facultad, gracias. También a mis compañeros de Kuhwaldstrasse en Frankfurt, que me acogieron como una más desde el primer día, y a mis compañeros de Puerto Williams y de caminatas al Cerro Bandera.

A los miembros de la Sociedad Española de Lichenología, gracias por compartir conocimientos, buenos ratos, y vuestra pasión por los líquenes. A Andrés Barbosa, por su perseverancia con los Seminarios Polares. A mis compañeros de APECS, por la labor divulgativa.

A mis padres. Gracias Isa, por contagiarme de tu espíritu aventurero, de tu pasión por las altas cumbres nevadas, de tu apetito de letras y libros. Gracias Mariano, por transmitirme tu admiración y respeto por la ciencia y las artes, así como tu interés por las plantas y la botánica.

A mis hermanos, Ana y Pablo, gracias por el apoyo y por la comprensión. Siento haber estado desaparecida del mapa últimamente, solo puedo decir que ha valido la pena y que ya estoy de vuelta para lo que haga falta. ¡Gracias!

Julia. Amiga, compañera, y responsable en gran parte de toda esta locura. Desde que te conozco has sido un ejemplo a seguir, siempre con un pliego entre manos, con tus inventarios de campos floridos y tu agenda de convocatorias. Aun no tengo claro si buen ejemplo o malo, pero si pudiera volver a empezar, volvería a seguir tus pasos (de baile). Gracias por animarme a seguir luchando en la adversidad.

Carolina. Menos mal que a alguien le dio por ser doctora de las que curan. Gracias por cuidarme, por mantener abierta tu consulta 24 horas al día 365 días al año, por mandarme a ver ardillas al retiro, y traerme pasteles de vez en cuando. Me salvaste en varias ocasiones.

Eva. El destino quiso cruzar nuestros caminos, pero fuimos nosotras las que elegimos seguir caminando juntas. Gracias por tus consejos de sabia, amuletos, talismanes, y cervezas de alta graduación en momentos de crisis. Que la fuerza del liquen te acompañe, hermana.

Jandro. Has sido testigo de cada uno de mis pasos en este viaje sin retorno. Este logro también es tuyo, no tengas duda. Compañero inquebrantable en las dificultades, has celebrado cada pequeño avance. Te has leído todos mis manuscritos para los que siempre has tenido una aportación o una crítica constructiva. En los momentos difíciles te has solidarizado con mis miedos, mis dudas, mi confusión. Pero cuando he dudado de mí, te has indignado, y me has colmado de ánimos, de reconocimiento y de admiración. Cada vez que me he caído me has tendido la mano para levantarme, y fueron tantas veces que ya perdí la cuenta hace tiempo. Gracias por tu apoyo incondicional, por la paciencia infinita, por tu honestidad. ¡Conseguido!

A mi familia. A mis amigos. A mis compañeros. Gracias.

## Índice general

<b>Brief Summary</b>	<b>1</b>
<b>Resumen Breve</b>	<b>7</b>
<b>Índice de abreviaturas</b>	<b>13</b>
<b>Introducción general</b>	<b>15</b>
1. Marco de trabajo	19
2. Contexto histórico	20
3. Conceptos clave y terminología breve	22
4. Antecedentes	25
4.1 Estructura de las comunidades antárticas y gradientes de vegetación	25
4.2 Supervivencia en ambientes antárticos	28
4.3 Los líquenes en las regiones polares y alpinas	32
5. Objetivos	34
<b>Metodología general</b>	<b>37</b>
1. Descripción de las áreas de estudio	39
1.1 Isla Livingston	39
1.2 Isla Navarino	43
2. Material biológico: los líquenes del grupo Neuropogon del Género <i>Usnea</i>	46
3. Fundamentos metodológicos	49
3.1 Estudios filogenéticos del micobionte y del fotobionte	49
3.2 Estudios de cobertura y microclima	50
3.3 Intercambio gaseoso	52
3.4 Monitorización de periodos de actividad y microclima	57



## Capítulo I

61

Selectividad y especificidad entre biontes en cinco especies de líquenes neuropogonoides (Género *Usnea*) de la tundra criptogámica antártica y subantártica.

1.	Introducción	63
2.	Material y Métodos	65
2.1	Descripción breve del área de estudio	65
2.2	Diseño de muestreo y experimental	66
2.3	Análisis de datos	67
3.	Resultados	68
3.1	Red de haplotipos del micobionte	68
3.2	Red de haplotipos del fotobionte	69
3.3	Patrones de selectividad y especificidad	72
3.4	Índices de diversidad	72
4.	Discusión	76

## Capítulo II

81

Estudio distribucional y ecofisiológico sobre el par de especies de líquenes antárticos *U. antarctica* / *U. aurantiaco-atra*

1.	Introducción	83
2.	Material y métodos	85
2.1	Descripción breve del área de estudio	85
2.2	Distribución general del par de especies	86
2.3	Estudios de cobertura	87
2.4	Estudios de microclima	88
2.5	Caracterización ecofisiológica de <i>Usnea</i>	89
2.6	Análisis de datos	90
3.	Resultados	91
3.1	Distribución local de <i>Usnea</i> (Isla Livingston)	91
3.2	Distribución general	93
3.3	Microclima	94
3.4	Respuesta fotosintética y contenidos hídricos	95
4.	Discusión	98

### Capítulo III

103

Estudio ecofisiológico de los líquenes del género *Usnea* presentes en la tundra alto-andina de Isla Navarino (Tierra de Fuego, Chile)

1. Introducción	105
2. Material y métodos	109
2.1 Descripción breve del área de estudio	109
2.2 Estudios de cobertura	109
2.3 Estudios de microclima	110
2.4 Caracterización ecofisiológica de <i>Usnea</i>	112
2.5 Análisis de datos	115
3. Resultados	116
3.1 Vegetación	116
3.2 Microclima	121
3.3 Respuesta fisiológica de <i>Usnea</i> bajo condiciones controladas	123
4. Discusión	130

### Capítulo IV

141

Análisis comparativo entre comunidades de tundra criptogámica antártica y subantártica: vegetación, microclima y monitorización a largo plazo de la especie clave *U. aurantiaco-atra*.

1. Introducción	143
2. Material y Métodos	145
2.1 Descripción breve del área de estudio	147
2. 2 Análisis comparativo de vegetación y microclima	147
2.3 Análisis comparativo del intercambio gaseoso	147
2.4 Monitorización a largo plazo de <i>U. aurantiaco-atra</i>	148
2.5 Análisis de datos	149
3. Resultados	150
3.1 Variaciones de la cobertura de vegetación	150
3.2 Caracterización microclimática de las comunidades	151
3.3 Respuesta fisiológica de <i>Usnea</i> bajo condiciones de laboratorio	153
3.4 Periodos de actividad de <i>Usnea aurantiaco-atra</i>	153
3.5 Condiciones asociadas a los periodos de actividad	155
4. Discusión	162

<b>Discusión general y propuesta de futuros estudios</b>	<b>167</b>
<b>Conclusiones generales</b>	<b>175</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>179</b>
<b>ANEXO A</b>	<b>193</b>
<b>ANEXO B</b>	<b>215</b>
<b>ANEXO C</b>	<b>234</b>
<b>ANEXO D</b>	<b>244</b>

**Fotografías:** Todas las imágenes han sido tomadas por Clara Laguna.

**Mapas:** Todos los mapas han sido elaborados por Alberto Benavent.

## **Brief Summary**



## Introduction

This PhD thesis entitled “Ecophysiology and molecular diversity of *Usnea* genus neuropogonoid lichens in Tierra del Fuego and maritime Antarctic” was elaborated by Clara Laguna Defior under the supervision of Ana Pintado Valverde and Leopoldo García Sancho, and presented at Universidad Complutense de Madrid in June 2016. The main goal of the thesis was to investigate the relationships between microclimate, diversity and functioning of the Antarctic and subantarctic cryptogamic tundra communities dominated by neuropogonoid lichens from the genus *Usnea*. The neuropogonoid lichens have been suggested to be potential bioindicators of global warming (Ellis & Yahr 2011) and contribute to many terrestrial ecosystems in the maritime Antarctic (Walker 1985). The latter region has shown substantial recent rises in temperature (Turner *et al.* 2005) with consequential effects on plant distribution (Smith 1994; Convey 2006).

Comparisons between places with similar vegetation but slightly warmer or colder climates can be achieved through the use of various strategies. First, latitudinal gradients can be used as a proxy to assess potential global warming impacts on natural ecosystems, or, alternatively, lower scale models of individual species can be utilized (Howard-Williams *et al.* 2006). Tierra del Fuego is the closest land mass to Antarctica and, due to climatic and floristic similarities it has been included amongst the subantarctic regions (Rozzi 2008). Bearing this in mind, the current study was developed to compare Livingston Island (South Shetland Islands) and Navarino Island (Tierra del Fuego, Chile). These two localities are separated by 7° latitude degrees and about 1000 km of ocean known as Drake Passage, and also have in common the presence of these plant formations dominated by *Usnea* genus lichens that are typical of polar and alpine regions in the southern hemisphere.

## Objectives

- To determine the identity of mycobiont and photobiont, the specificity and selectivity relationships between them, and the haplotype diversity levels of neuropogonoid lichens in the studied areas.
- To analyze the relationships between *Usnea* distribution and microclimate at Livingston Island and at Navarino Island.

- To explore the photosynthetic behavior of *Usnea* neuropogonoid lichens *in situ* and under controlled laboratory conditions.

## Methodology

Several methodological approaches have been used in the current PhD thesis. Molecular biology techniques were applied to determine the identity of the lichen symbiotic partners, (fungi and algae) and to evaluate the specificity of the relationships between them; and also to compare the genetic diversity at the studied localities. Plant distribution in relation to environmental conditions of temperature and air relative humidity was studied *in situ*. Photosynthetic response to water content, light and temperature variations was analyzed on several *Usnea* lichen species by means of CO<sub>2</sub> gas exchange measurements under controlled laboratory conditions. Long term monitoring of the key species, *Usnea aurantiaco-atra*, was carried out to determine the activity periods and the associated microclimatic conditions.

## Main Results

As a result, novel data about this lichen group were obtained, especially in relation to photosynthesis and about the microclimatic conditions of the studied Antarctic and subantarctic tundra communities. Based on the phylogenetic studies, it has been shown that the relation between bionts in this group are not very specific, and that all the studied lichen species associate with the same haplotype of the algal species *Trebouxia jamesii*. Based on the CO<sub>2</sub> gas exchange studies, it was found that all the studied species have very similar photosynthetic responses to major environmental factors. At Livingston Island, the performance of fertile *U. aurantiaco-atra* differed only in the maximum water content, which was higher in comparison to its asexual sorediate counterpart *U. antarctica*. At Navarino Island, the several studied species were compared based on their anatomical features, and whilst those with a thick axis (*U. aurantiaco-atra* and *U. antarctica*) had slightly higher photosynthetic rates under optimal conditions of light, temperature, and water content, those with a thin axis (*U. trachycarpa* and *U. ushuaiensis*) achieved higher maximum water contents. These differences coincided with changes in their local distributions, which depended on factors more related to water availability than to temperature variations. Long term monitoring of this species on both sides of the Drake Passage showed that the activity periods were greater in Livingston Island than in Navarino where the microclimatic conditions were overall warmer and dryer. However, conditions during the activity periods were very similar at

the studied sites. All these results provide a wide database of intercontinental relevance about microclimatic, genetic and ecophysiological aspects, and therefore is also a robust reference for the future evaluation of impacts of global warming on these significant and distinctive communities of the southern cold regions.

## Conclusions

- The differences observed in the physiological and ecological performance of the species were driven mainly by the fungal component of the symbiosis, and not by the photosynthetic partner, the latter being very similar between species.
- When the species were categorized from an anatomical point of view, like the dispersal strategy (fertile/sorediate) or the axial chord thickness, they showed differences in their local distribution, which could be related to factors such as snow accumulation and dryness.
- The anatomical categories also aligned with physiological variations mainly linked to water relations. The sorediate species in Livingston Island and the thick axis species in Navarino, for example, were locally linked to dryer environments.
- The long term monitoring of *U. aurantiaco-atra* showed again how water availability explains most of the variation in the activity period duration in the studied lichens, and that tundra communities appear in Tierra del Fuego where (and when) the microclimatic conditions are closer to those found in the maritime Antarctic.

All the results point to water as being the major driver controlling the distribution and photosynthetic behavior of these lichens. Based on the latest forecasts (IPCC 2014), tundra ecosystems are potentially endangered by global warming, which might affect them mainly through temperature rise itself and through changes in snow cover. Our results indicate that water relations, which are also influenced by temperature and snow, are another key factor to consider when evaluating climate change impacts in tundra communities dominated by neuropogonoid lichens.





## **Resumen Breve**



El objetivo principal de la presente tesis doctoral fue investigar las relaciones entre microclima, diversidad y funcionamiento en las comunidades de tundra criptogámica antártica y subantártica, a través del estudio de los líquenes neuropogonoides del género *Usnea*. Estos organismos, han sido señalados como potenciales bioindicadores del calentamiento global (Ellis & Yahr 2011), y dominan gran parte de los ecosistemas terrestres de la Antártida marítima. Dicha región que se está viendo especialmente afectada por el aumento de temperaturas (Turner *et al.* 2005; Smith 1994; Convey 2006). Se han sugerido diversas estrategias para la evaluación del impacto del calentamiento sobre los ecosistemas naturales. Entre ellas, Howard-Williams *et al.* 2006 plantean el uso de comparaciones entre lugares con vegetación similar pero de clima ligeramente más cálido o más frío, lo cual se puede alcanzar a través de desplazamientos latitudinales, así como mediante el uso de modelos a pequeña escala sobre especies individuales. Tierra del Fuego, debido a las similitudes climáticas y florísticas con la Antártida, se incluye entre las regiones subantárticas (Rozzi 2008). En este contexto, se plantea el presente estudio comparativo entre Isla Livingston (Islas Shetland del Sur, Antártida marítima) e Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile), dos localidades separadas por 7° de latitud y por los cerca de 1000 km de océano del paso de Drake, y que tienen en común la presencia de estas comunidades de tundra dominadas por líquenes del género *Usnea*, características de ambientes polares y alpinos del hemisferio sur (Walker 1985).

Las aproximaciones metodológicas fueron varias. Se aplicaron técnicas de biología molecular para determinar la identidad de los dos componentes de la simbiosis (alga y hongo) y evaluar el grado de especificidad de las relaciones entre ellos; y para determinar los niveles de diversidad de ambos biontes en las distintas localidades estudiadas. Se llevaron a cabo estudios *in situ* sobre la distribución de los distintos grupos de vegetación, en relación a las condiciones ambientales de humedad y temperatura. Se analizó la respuesta fotosintética de diversas especies de líquenes frente a las variaciones de contenido hídrico, luz y temperatura, mediante medidas de intercambio gaseoso bajo condiciones controladas de laboratorio. También, se llevó a cabo la monitorización a largo plazo de la especie clave *Usnea aurantiaco-atra*, presente en ambas regiones, para determinar los periodos de actividad y las condiciones microclimáticas asociadas.

Se obtuvieron datos inéditos sobre este grupo de líquenes, especialmente en relación a la fotosíntesis, y sobre las condiciones microclimáticas de las comunidades de tundra antártica y subantártica estudiadas. Mediante el estudio filogenético, se comprobó que las relaciones entre biontes son poco específicas en este grupo, y que todas las especies de líquenes

estudiadas se asocian preferentemente con un mismo haplotipo de fotobionte de la especie *Trebouxia jamesii*. Los estudios de intercambio gaseoso mostraron respuestas muy similares por parte de las distintas especies estudiadas. En el caso de Isla Livingston, se observó que el comportamiento de la especie fértil *U. aurantiaco-atra* y de su contraparte asexual *U. antarctica* solo se diferenciaba en la capacidad máxima de hidratación, que resultó superior en la primera. En el caso de Navarino, las especies estudiadas se agruparon en base a características anatómicas, y mientras que las de cordón axial grueso (*U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica*) mostraron tasas fotosintéticas ligeramente superiores bajo condiciones óptimas de hidratación, luz y temperatura, las especies de cordón axial fino (*U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*) se caracterizaron por alcanzar valores mayores de contenido hídrico máximo. Estas diferencias se vieron acompañadas por cambios en la distribución local, que señalaban que factores relacionados con la disponibilidad hídrica eran más determinantes que las variaciones en la temperatura. La monitorización a largo plazo de esta especie a ambos lados del paso de Drake, mostró que los periodos de actividad de esta especie clave eran más prolongados en Isla Livingston que en Navarino, donde, en general, las condiciones microclimáticas fueron más cálidas y secas. Sin embargo, al considerar solamente las condiciones durante los periodos de actividad, estas fueron muy similares entre las dos localidades. Los resultados aportan además una amplia base de datos de alcance intercontinental sobre aspectos microclimáticos, genéticos y ecofisiológicos, y por tanto una sólida referencia para la evaluación de futuros impactos del cambio global en estas comunidades clave de las regiones frías australes.

A partir de los resultados se extrajeron las siguientes conclusiones generales:

- Las diferencias en el comportamiento fisiológico y ecológico entre las especies de líquenes neuropogonoides se debieron principalmente al componente fúngico de la simbiosis, y no tanto al componente fotosintético, que era muy similar entre especies.
- Las especies estudiadas se agruparon en base a características anatómicas, como el grosor del cordón axial o el modo de dispersión (fértil/sorediada), mostraron diferencias en su distribución local, que estaban relacionadas principalmente con factores como la acumulación de nieve y el déficit hídrico.
- Las distintas categorías anatómicas se alinearon también con variaciones fisiológicas relativas a las relaciones hídricas principalmente. La especie sorediada *U. antarctica* se

pudo asociar localmente en isla Livingston a ambientes con mayor déficit hídrico. En isla Navarino estos ambientes fueron asociados a las especies de cordón axial grueso.

- Los resultados de la monitorización, de nuevo mostraron como la disponibilidad hídrica controlaba en gran parte la duración de los periodos de actividad de estos líquenes. Todos los resultados apuntan a que este factor tiene una mayor influencia que la temperatura en la distribución y el comportamiento fotosintético de estos líquenes, y a que las comunidades de tundra estudiadas, aparecen en Tierra del Fuego ahí donde (y cuando) las condiciones microclimáticas se parecen a las de la Antártida marítima.

Según las previsiones más recientes (IPCC 2014), los ecosistemas de tundra están potencialmente amenazados por el calentamiento global, que operaría sobre ellos a través de factores como el propio aumento de temperatura y los cambios en el manto nival principalmente. Nuestros resultados señalan la disponibilidad hídrica, que también depende de los anteriores, como otro factor clave a tener en cuenta a la hora de evaluar los impactos del cambio climático en las comunidades de tundra dominadas por líquenes neuropogonoides.



## Índice de abreviaturas

Abreviatura	Término en español	English term
Amax	Máxima tasa fotosintética del ajuste de Smith	Maximum photosynthetic rate from Smith adjustment
ANOVA	Análisis de la Varianza	Analysis of Variance
BAEJCI	Base Antártica Española Juan Carlos I	Spanish Antarctic Base Juan Carlos I
cmT	Temperatura media del mes más frío	coldest month mean Temperature
DNA	Ácido Desoxirribonucleico	Deoxyribonucleic Acid
DR	Respiración en Oscuridad	Dark Respiration
DRmax	DR en el WCmax	DR in the WCmax
DRopt	DR en el WCopt	DR in the WCopt
dw	Peso Seco	Dry Weigh
GP	Fotosíntesis Bruta	Gross Photosynthesis
GPmax	GP en el WCmax	GP in the WCmax
GPopt	GP en el WCopt	GP in the WCopt
Hd	Índice de diversidad de haplotipos	Haplotype diversity index
IQR	Rango Intercuartílico	Interquartile Range
ITS	Espaciador Interno Transcrito	Internal Transcribed Spacer
m s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar	Meters above sea level
maP	Precipitación media anual	mean annual Precipitation
maT	Temperatura media anual	mean annual Temperature
NP	Fotosíntesis Neta	Net Photosynthesis
NPmax	Máxima tasa fotosintética de la Curva de Temperatura	Maximum photosintetic rate from Temperature Curve
p	p-valor estadístico	statistic p-value
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa	Polymerase Chain Reaction
PPFD	Densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos	Photosynthetic Photon Flux Density
RH	Humedad Relativa	Relative Humidity
Rsqr	valor R al cuadrado de las regresiones	square R value from regressions
S	Sur	South
SVP	Presion de Vapor de Saturacion	Saturation Vapour Pressure
T	Temperatura	Temperature
Topt	Óptimo de Temperatura	Temperature Optimum
Tp	Temperatura positiva anual	positive anual Temperature
VPD	Deficit de Presion de Vapor	Vapour Pressure Deficit
W	Oeste	West
WC	Contenido Hidrico	Water Content
WCmax	Contenido Hidrico Máximo	Maximum Water Content
WCopt	Contenido Hidrico Optimo	Optimum Water Content
wmT	Temperatura media del mes más cálido	warmest month mean Temperature
WW	Peso Hidratado	Wet Weigh



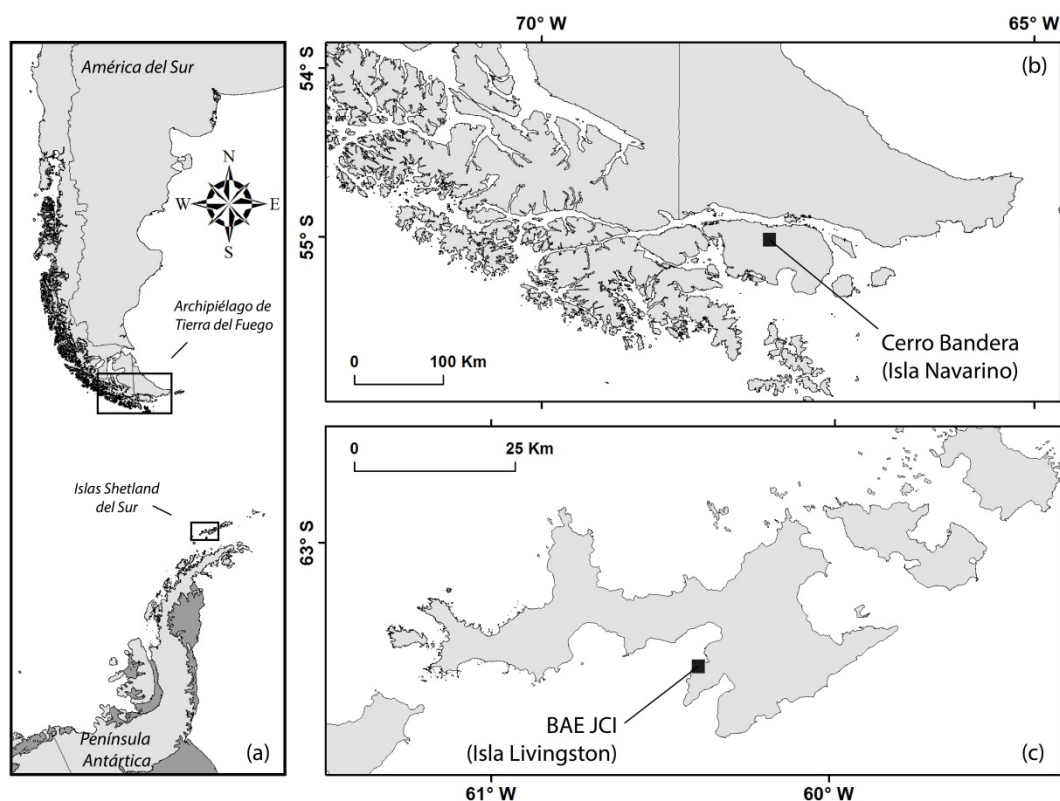


## **Introducción general**



La Antártida, con una superficie de más de 14 millones de km<sup>2</sup> de extensión, es el único continente que nunca ha soportado poblaciones humanas permanentes. Es, por tanto, un “laboratorio natural” ideal para el estudio de interacciones entre clima y vegetación. A lo largo del gradiente latitudinal antártico la vegetación sufre un descenso drástico de diversidad (Peat *et al.* 2007). Análogamente se ha comprobado una clara disminución de la biomasa (Longton 1988), así como de las tasas de crecimiento (Sancho *et al.* 2007a). La composición de las comunidades también cambia con la latitud, pasando de las comunidades más ricas de tundra típicas de la Antártida marítima, hasta el aprovechamiento de los microhábitats más extremos en las comunidades criptoendolíticas de la Antártida continental (De los Ríos *et al.* 2005). Sin embargo no está claro cuáles son los factores que determinan estos patrones, por lo que recientemente se estableció la importancia del desarrollo de estudios desde un enfoque latitudinal en la Antártida (Howard-Williams *et al.* 2010). Como consecuencia se han publicado diversos trabajos en este sentido (Green *et al.* 2011; Ruprecht *et al.* 2012; Raggio *et al.* 2016) que contemplan una amplia variedad de ambientes, desde las regiones más frías y áridas de la denominada Antártida continental, hasta las regiones relativamente más húmedas y menos frías de la Antártida marítima.

Tierra del Fuego es el territorio más austral de Sudamérica, así como la masa continental más próxima a la Antártida (**Figura 1**). El Pasaje de Drake supone una barrera de unos 1000 km entre estos territorios, los cuales sin embargo muestran conexiones biogeográficas entre ellos (Winkworth 2002). El clima de Tierra del Fuego está en gran parte determinado por la influencia de los océanos circumpolares. Todo ello ha justificado la inclusión de Tierra del Fuego entre los territorios subantárticos (Rozzi *et al.* 2007). La región también destaca por el buen estado de conservación de sus ecosistemas y por la elevada diversidad de su flora criptogámica, lo que ha llevado al establecimiento de la “Reserva de la Biosfera del Cabo de Hornos”. Tierra del Fuego, por tanto, se convierte en un lugar destacado para determinar las principales tendencias de los ecosistemas terrestres de la Antártida en el contexto del cambio global. En dicho territorio encontramos elevaciones de más de 1000 m en cuyas cimas se dan condiciones climáticas relativamente similares a las de algunas regiones de la Antártida marítima y donde se pueden encontrar unas comunidades vegetales comunes a ambos territorios (Redón & Quilhot 1977; Etayo & Sancho 2008). Son las comunidades de tundra dominadas por líquenes del grupo *Neuropogon* (género *Usnea* Dill. ex Adans, familia *Parmeliaceae*).



**Figura 1.** Mapa de (a) ubicación de las zonas de estudio en el paso de Drake; (b) detalle de la ubicación del Cerro Bandera en Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile); y (c) detalle de la ubicación de la Base Antártica Española en Isla Livingston (Islas Shetland del Sur).

Los líquenes del grupo *Neuropogon* (o líquenes neuropogonoides) son uno de los componentes más abundantes y característicos en los ecosistemas terrestres de la Antártida (Walker 1985). A pesar del origen polifilético de las distintas especies del género *Usnea* que lo conforman (Wirtz *et al.* 2006), su distinción como grupo se mantiene en base a su morfología y su distribución características. Es un grupo de líquenes de distribución bipolar que aparecen en el Ártico, en la Antártida y en algunas regiones alpinas, como es el caso de Tierra del Fuego. A su vez, estos líquenes han sido señalados como potenciales bioindicadores para la monitorización del cambio global (Ellis & Yahr 2011) principalmente en base a dicha distribución restringida a ciertas regiones frías. En la Metodología General se profundiza en la descripción de las características de estos líquenes.

En este contexto se plantea el presente trabajo, un estudio comparativo, desde el punto de vista de la ecofisiología y de la diversidad molecular, de los sistemas de tundra antártica (Isla Livingston, Antártida marítima) y subantártica (Isla Navarino, Tierra del Fuego) dominados por líquenes del género *Usnea*. Dicho trabajo se realizó en el departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia (Universidad Complutense de Madrid), en colaboración con la Base

Antártica Española Juan Carlos I (BAE JCI), la Fundación Omora (Chile) y el Instituto de Investigación Senckenberg (Frankfurt) entre los años 2010 y 2015.

## 1. Marco de trabajo

La presente tesis doctoral se plantea en el marco del proyecto nacional de investigación dirigido por L.G. Sancho y titulado *“Gradientes ambientales en ecosistemas terrestres antárticos. Cambios en diversidad y productividad en comunidades vegetales desde Tierra del Fuego hasta las Montañas Transantárticas”* (CTM2009-12838-C04-01). Dicho proyecto proponía la descripción e interpretación de comunidades vegetales desde el punto de vista de la productividad y la diversidad a través de gradientes ambientales y latitudinales. El ámbito de actuación del proyecto incluye las tres grandes regiones biogeográficas antárticas: la región subantártica, la Antártida marítima y la Antártida continental. El citado proyecto es continuación, a su vez, de otros anteriores en los que se relacionaron con éxito biodiversidad, microclima y ecología funcional, como el proyecto CTM2006-12179-C02-01 titulado *“Biocomplejidad de ecosistemas antárticos y subantárticos frente al cambio global”*. El trabajo que aquí se presenta se asienta, por tanto, sobre una sólida base conceptual y metodológica, así como sobre la amplia variedad de publicaciones disponibles en la materia que se detallan más adelante.

La hipótesis central del citado proyecto era que *“factores biológicos y ambientales controlan la diversidad a lo largo del gradiente latitudinal desde la Antártida continental a Tierra del Fuego, y en gradientes altitudinales que imitan la latitud”*. Y es que, a pesar de los avances recientes en el conocimiento de los ecosistemas terrestres antárticos (Green *et al.* 2011), todavía estamos en camino de comprender los mecanismos que subyacen en la distribución y funcionamiento de la fauna y flora antárticas. Este conocimiento es de gran importancia debido a la necesidad de conservar y gestionar estas comunidades, así como por las sugerencias del potencial uso de la vegetación antártica para detectar procesos de cambio global como el calentamiento climático (Kennedy 1995). Los principales objetivos del citado proyecto, y que de algún modo se trataron de abordar en esta tesis doctoral, se exponen a continuación:

- Avanzar en el conocimiento de la biodiversidad terrestre a lo largo del gradiente latitudinal antártico.

- Medir productividad tanto instantánea (fotosíntesis) como a largo plazo (crecimiento) en distintos puntos del gradiente latitudinal.
- Realizar estimaciones de biomasa en distintos puntos del gradiente latitudinal
- Analizar las correlaciones entre productividad, biomasa y diversidad.
- Extender el gradiente latitudinal a la región subantártica (Tierra del Fuego) e incluir gradientes altitudinales para mejorar nuestro conocimiento de esas comunidades terrestres infraestudiadas y para establecer vínculos entre ellas y la Antártida.
- Establecer los principales factores que expliquen los cambios en la estructura y función de los ecosistemas en relación a latitud y altitud combinando microclima, actividad y biodiversidad.
- Utilizar los resultados para obtener un mejor entendimiento de los efectos potenciales del cambio climático en los ecosistemas terrestres antárticos y subantárticos.

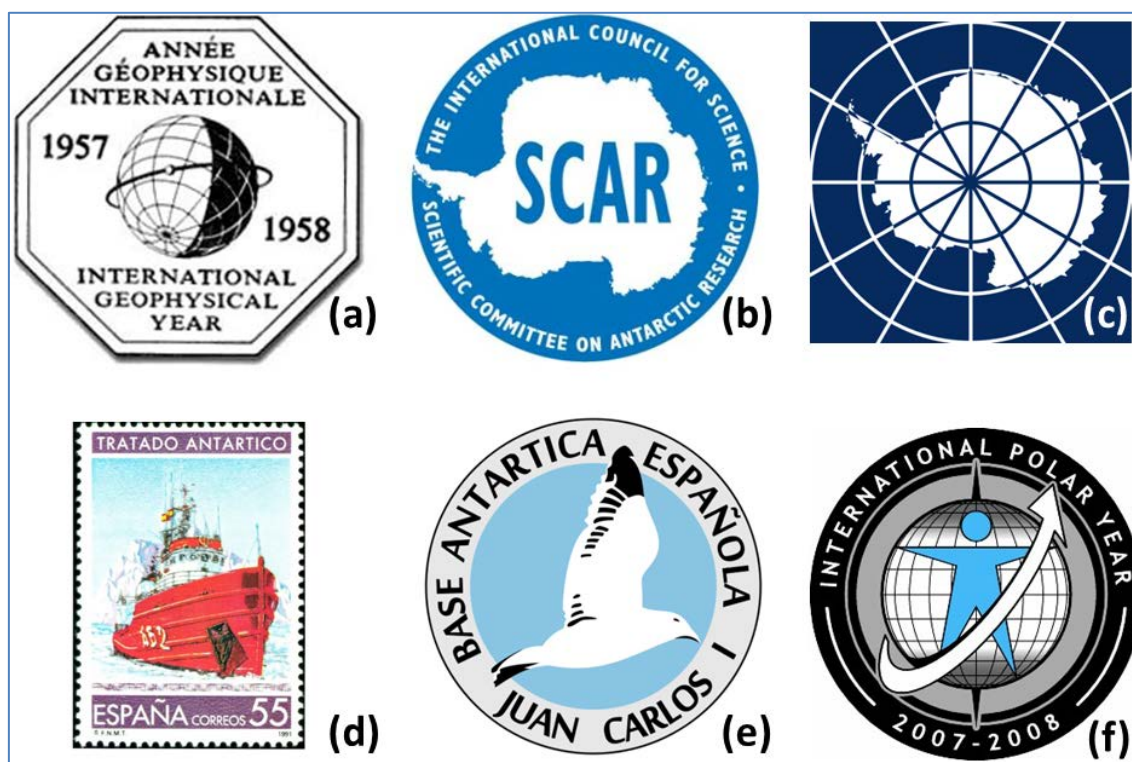
## 2. Contexto histórico

El Año Geofísico Internacional (IGY, 1957-1958) fue un evento científico celebrado con el propósito de fomentar la cooperación científica en el ámbito de las Ciencias de la Tierra, y que inspiró dos hitos principales que marcan el comienzo de la investigación antártica moderna (**Figura 2**). Por un lado, en 1958, se crea el Comité Científico de Investigación Antártica (SCAR, <http://www.scar.org/>). El SCAR es un organismo de carácter interdisciplinar que se encarga desde entonces y hasta la actualidad de fomentar, desarrollar y coordinar la investigación científica en la región antártica con el respaldo del Comité Internacional de la Ciencia (ICSU).

El 1 de diciembre de 1959 culmina el proceso en que representantes de cada una de las doce naciones con actividad científica en la Antártida redactan y firman el Tratado Antártico (AT, <http://www.ats.aq/>), también vigente a día de hoy. Dicho tratado supone un compromiso de cooperación científica internacional y una declaración de libertad de investigación en todo el continente, siempre bajo el precepto de unos fines pacíficos. Posteriormente se han ido adhiriendo diversos países hasta los 52 actuales firmantes, reconociendo “[...] *que es en interés de toda la humanidad que la Antártida continúe utilizándose siempre exclusivamente para fines pacíficos y que no llegue a ser escenario u objeto de discordia internacional*”, así

como “la importancia de las contribuciones aportadas al conocimiento científico como resultado de la cooperación internacional en la investigación científica en la Antártida [...]”.

Como consecuencia de todo lo anterior se produce el establecimiento de numerosas bases científicas, lo cual permite a su vez el desarrollo de diversas líneas de investigación en distintas áreas. España ratifica el Tratado Antártico el 31 de marzo de 1982, y en 1988 se establece la primera Base Antártica Española “Juan Carlos I” (BAE JCI) en Isla Livingston (Islas Shetland del Sur). Más recientemente, la celebración del Año Polar Internacional (IPY) 2008-2009, organizado por el ICSU junto con la Organización Meteorológica Mundial (WMO), ha dado un nuevo impulso a la investigación en las regiones Ártica y Antártica.



**Figura 2.** Iconografía seleccionada de la historia de la investigación antártica internacional y española: (a) emblema oficial del Año Geodésico Internacional (IGY) 1957-1958; (b) logotipo del Comité Científico de Investigación Antártica (SCAR); (c) emblema adoptado en 2002 para representar al Tratado Antártico (AT); (d) sello conmemorativo de la reunión emitido en 1992 por Correos (España) en conmemoración de la elaboración del Protocolo de Madrid; (e) logotipo de la Base Antártica Española Juan Carlos I (BAE JCI); y (f) emblema oficial del año polar Internacional (IPY) 2007-2008.



### 3. Conceptos clave y terminología breve

A continuación se definen una serie de conceptos clave mediante la acepción que se ha considerado a lo largo del presente trabajo. Del mismo modo se delimitan las principales regiones geográficas relevantes para el estudio.

- **Antártida.** Se considera Antártida *sensu stricto* al conjunto de la masa continental principal, la Península Antártica y los archipiélagos estrechamente asociados a la misma por el oeste (Islas Shetland del Sur) y el norte (Islas Orcadas del Sur). Todos estos territorios quedan por debajo de los 60 ° de latitud sur, que por otro lado es el ámbito de aplicación del tratado antártico. La Antártida se puede dividir en base a su vegetación en dos regiones geobotánicas: la región marítima, que a su vez se subdivide en dos provincias, y la región continental (definidas a continuación según la delimitación de Peat *et al.* 2007).
- **Antártida marítima.** Incluye la mayor parte de la Península Antártica, archipiélagos e islas adyacentes. Es la región de clima relativamente menos severo. Se divide en dos provincias en base a su vegetación. La Antártida marítima del Norte incluye, desde los 60 °S, los siguientes territorios: las Islas Shetland del Sur, las Orcadas del Sur, la costa oeste de la Península Antártica e Islas adyacentes hasta los 68 °S, y la costa noreste hasta los 65 °S. La Antártida marítima del Sur incluye el resto de Península Antártica e islas adyacentes hasta los 72 °S.
- **Antártida continental.** Incluye la masa continental principal (o Antártida del Este) y los territorios del Oeste por debajo de los 72 °S.
- **Islas subantárticas.** Conjunto de archipiélagos e islas que se encuentran en los océanos que circundan la Antártida quedando por encima de los 60 °S según las delimitaciones del Tratado Antártico y que se pueden agrupar en base a criterios biogeográficos. Esto incluye diversos archipiélagos como los de las Malvinas, Sandwich del Sur, y Georgias del Sur (entre otros) e Islas como Bouvetøya, Krozet, y Kerguelen (entre otras). También se consideran islas subantárticas *sensu lato* a algunas islas de las regiones más australes de Sudamérica (Tierra del Fuego) y de Nueva Zelanda, en base a afinidades climáticas y biogeográficas.

- **Límite del bosque.** Es un término que se utiliza para denominar la latitud/altitud a partir de la cual las condiciones climáticas limitan el desarrollo de la vida vegetal de tal modo que el crecimiento de árboles no es posible. En este punto los bosques desaparecen dando paso a los ecosistemas de tundra.
- **Región alpina.** Cualquier región que por altitud alcanza el límite del bosque dando paso a la tundra. En el caso particular de Sudamérica también se denominan regiones alto-andinas (Nagy & Grabherr 2009).
- **Tundra.** Tipo de vegetación o bioma caracterizado por la ausencia de árboles y debido principalmente a las limitaciones del crecimiento vegetal por bajas temperaturas. Es propio de regiones polares y alpinas. Generalmente está compuesta por plantas leñosas rastreras, herbáceas y una gran abundancia de criptógamas.
- **Ecofisiología vegetal.** Es el estudio de los mecanismos que subyacen en el comportamiento de los organismos vegetales en relación a las condiciones ambientales y frente a variaciones de las mismas. Dicho de otro modo, consistiría en la introducción de experimentación en los estudios de ecología para comprender el funcionamiento de la vegetación (Lüttge & Scarano 2004). Esto se puede llevar a cabo bien mediante la monitorización *in situ* del comportamiento de la vegetación en relación al microclima, o bien bajo condiciones controladas de laboratorio.
- **Gradiente ambiental.** Cambio gradual de las características climáticas o fisicoquímicas de un ecosistema o zona geográfica (como la temperatura media anual, la precipitación media anual, el pH, la salinidad, etc.) entre dos puntos de referencia. Los gradientes ambientales pueden expresarse en relación a la latitud, a la altitud, o a otros marcos de referencia (distancia a la costa, distancia a un frente glaciar, etc.), denominándose en tal caso como gradiente latitudinal, gradiente altitudinal, etc.
- **Gradiente de vegetación.** Cambio gradual de aspectos biológicos de la vegetación (biodiversidad, tasas de crecimiento, cobertura, etc.) entre dos puntos de referencia. Al igual que los gradientes ambientales, los gradientes de vegetación pueden expresarse en relación a la latitud, a la altitud o a otras referencias.

- **Vegetación.** En el presente trabajo el termino vegetación se emplea en el sentido utilizado por Peat *et al.* 2007 en su revisión de la diversidad de la flora antártica, es decir, el conjunto de macro-organismos fotosintéticos que conforman los ecosistemas terrestres incluyendo plantas vasculares, líquenes y briófitos.
- **Criptógamas.** Este concepto incluye en sentido amplio todos organismos vegetales que no producen semillas, es decir, algas, hongos, líquenes, briofitos y helechos. Es un término de carácter no taxonómico pero muy utilizado tradicionalmente en el ámbito de la botánica. En el presente trabajo se utiliza principalmente en referencia al conjunto de líquenes y briófitos, organismos fotosintéticos predominantes en las comunidades estudiadas, en contraposición a las plantas vasculares.
- **Liquen.** Los líquenes son organismos simbióticos formado por un hongo (micobionte) y uno o más componentes fotosintéticos (fotobionte) que generalmente son algas verdes, aunque también pueden ser cianobacterias (Henskens *et al.* 2012). Las distintas especies de liquen se clasifican en base a la identidad taxonómica del hongo, que es el componente que predomina en el liquen al menos en lo que se refiere a biomasa del organismo. Pueden reproducirse o bien de forma sexual (mediante apotecios, los cuales producen esporas), o de forma asexual (generalmente mediante soralios o isidios, los cuales producen propágulos que incluyen ambos biontes). Nash (2008) recoge sus principales características (anatomía, funcionamiento, biogeografía, sistemática) en el libro “Lichen biology”, el cual ha servido de referencia a lo largo del presente trabajo.
- **Briófitos.** Agrupación de carácter taxonómico que incluye musgos, hepáticas y antocerofitos. Son un conjunto de plantas terrestres no vasculares, poiquilohídricas, y de organización interna sencilla. Los briófitos se incluyen entre las criptógamas fotosintéticas, y al igual que los líquenes son organismos poiquilohídricos.
- **Poiquilohidria.** Condición de aquellos seres vivos que no disponen de mecanismos de regulación del contenido hídrico, el cual se equilibra de forma pasiva con el del ambiente, como es el caso de líquenes y briófitos. El estado de hidratación de estos organismos, y en consecuencia su grado de activación, depende de la disponibilidad hídrica en su entorno próximo.

## 4. Antecedentes

En un primer periodo, los estudios de vegetación antártica (años 50 y 60) se enfocaron principalmente en analizar los mecanismos de supervivencia al estrés, principalmente por medio de las metodologías de la ecofisiología vegetal. Posteriormente (años 80 y 90) se realizaron substanciales revisiones taxonómicas de los principales grupos de vegetación (líquenes, briófitos y hepáticas). Los mismos desembocaron a comienzos del siglo XXI en un conocimiento mejorado de la flora, el comienzo de las interpretaciones biogeográficas y la creación de bases de datos de vegetación (Green *et al.* 2007).

### 4.1 Estructura de las comunidades antárticas y gradientes de vegetación

En la Antártida la vegetación queda relegada a la superficie que aparece libre de hielo en verano, la cual representa menos de un 1% del total, en concreto el 0.3 %. La mayor parte de la vegetación se concentra en las regiones de clima menos severo, como son la Península Antártica e islas adyacentes, o en las zonas costeras de la Antártida continental. Desde el punto de vista biogeográfico la Antártida se divide en dos regiones principalmente: la Antártida marítima y la Antártida continental (Peat *et al.* 2007). La primera abarca la mayor parte de la Península Antártica e islas adyacentes hasta los 72 °S, y ahí es donde se encuentra la mayor parte de la vegetación. La segunda se corresponde con el resto del continente, donde las condiciones son mucho más severas y la vegetación solo aparece en sitios particularmente favorables.

Los componentes de la vegetación antártica son unas 350 especies de líquenes, unas 115 de musgos, 27 hepáticas y dos plantas vasculares (Peat *et al.* 2007) por lo que la estructura de las comunidades de vegetación antártica se ve muy simplificada. La flora líquénica fue recopilada por Øvstedal & Smith (2001); la de briófitos por Ochyra *et al.* (2008); y las dos plantas vasculares son *Colobantus quitensis* (Kunth) Bartl. y *Deschampsia antarctica* Desv., un césped y un caméfito de crecimiento pulviniforme (almohadillado o en forma de cojín). La única asociación vegetal dominada por las plantas vasculares queda confinada a la Antártida marítima, y se desarrolla generalmente en hábitats resguardados, de orientación norte, y costeros. Por otro lado, en ausencia de estas, las criptógamas adquieren protagonismo. Las subdivisiones de comunidades criptogámicas pueden estar dominadas por líquenes o musgos. Las comunidades dominadas por musgos conviven en mayor o menor medida con algunas especies de líquenes. En la zona marítima son mucho más ricas y exuberantes que en la zona

continental, en donde los musgos quedan restringidos a sitios resguardados con aportes de agua regulares a partir de fusión de hielos. Las comunidades dominadas por líquenes más típicas de la Antártida según Green *et al.* (2007) se describen a continuación.

- (1) Comunidades dominadas por líquenes de tipo fruticoso-folioso. Son las más características y ocupan áreas extensas en la Antártida marítima. Son raras en la región continental, aunque también existen. Aparecen típicamente en laderas y bloques de rocas, con una distribución aparentemente determinada por la disponibilidad hídrica, acumulación de nieve, protección del viento y de la radiación. En estas comunidades los géneros *Usnea* y *Umbilicaria* Hoffm. son dominantes con frecuencia, cuyos especímenes suelen alcanzar grandes tamaños (hasta 20cm de diámetro en el caso de *Umbilicaria*). Otro componente característico de estas comunidades son los musgos del género *Andreaea* Brown & Lemmon.
- (2) Comunidades dominadas por líquenes de tipo crustáceo-folioso. Son amplias en ambas zonas marítima y continental, siendo predominante en esta última allí donde hay resguardo y disponibilidad de agua en forma de nieve derretida. Son formaciones parcheadas y que raramente alcanzan el 100 % de cobertura.
- (3) Finalmente, en los ambientes más extremos encontramos casi exclusivamente líquenes crustáceos, y en zonas áridas pero con aportes puntuales de agua y luz, aparecen las asociaciones endolíticas, es decir, que dada la severidad de las condiciones tan solo se pueden desarrollar dentro de las rocas.

Se observa, por tanto, una simplificación de los ecosistemas con el aumento de la severidad de las condiciones. Esto queda reflejado en los tres gradientes de vegetación que se han descrito a grandes rasgos con el aumento de la latitud en la Antártida: el gradiente de biodiversidad, el de cobertura y el de tasas de crecimiento. **El gradiente de biodiversidad**, por ejemplo, supone una disminución en el número de especies con la latitud. El máximo número de especies lo encontramos en el norte de la Península Antártica y archipiélagos adyacentes. Según va aumentando la latitud, la biodiversidad disminuye gradualmente a lo largo de la península hasta los 72° al sur de la misma donde tan solo encontramos un tercio de los musgos y líquenes, una décima parte de las hepáticas y las mismas plantas vasculares (Peat *et al.* 2007). Sin embargo, en la región continental no se observa la pérdida de especies gradual asociada a la latitud de la península. Ya no hay fanerógamas (es decir, que solo hay poiquilohídricos), y

tan solo encontramos un 20 % de los líquenes y musgos, y una sola especie de hepática. En la región continental, donde las bajas temperaturas y la escasez de disponibilidad hídrica son aún más severas, la diversidad vegetal es menor. Ya no hay fanerógamas (es decir, que solo hay poiquilohídricos), y tan solo encontramos un 20 % de los líquenes y musgos, y una sola especie de hepática. A lo largo de esta zona los efectos del clima sobre la vegetación ya no dependen de la latitud, sino de la existencia de microhábitats favorables (Green *et al.* 2011).

El **gradiente de cobertura**, por su parte, supone una disminución gradual de la proporción del terreno ocupado por vegetación frente a los suelos desnudos. Así pues, la cobertura pasa de grandes extensiones de vegetación más o menos continuas en las regiones más favorables de la Antártida marítima a una vegetación cada vez más dispersa y que aparece sólo de forma puntual en la región continental (Green *et al.* 2007). Análogamente, **el gradiente de las tasas de crecimiento** supone una disminución de hasta dos órdenes de magnitud entre las latitudes más separadas de la Antártida marítima y continental (Sancho *et al.* 2007a).

Estudios recientes han relacionado dichos gradientes de vegetación con gradientes ambientales. En el caso de la Antártida marítima, la disminución gradual de biodiversidad, cobertura y tasas de crecimiento se ha relacionado con la disminución de las temperaturas con la latitud. Sin embargo, en la Antártida continental, la vegetación aparece en los denominados “oasis”, allí donde las condiciones ambientales son algo más favorables, independientemente de la latitud. Es decir, que los mecanismos que determinan las principales tendencias de la vegetación serían distintos en las distintas regiones. En la Península, donde la disponibilidad hídrica no es un factor limitante, la temperatura determina la distribución de la biodiversidad; en el continente sin embargo la vegetación aparece fragmentada y no depende de la temperatura sino de la disponibilidad hídrica, con el añadido de estrés lumínico (Green *et al.* 2011). Dicho de otro modo, en la Antártida se observa una gran disminución de productividad y tasas de crecimiento que se alinea con la disminución en precipitación e indica que líquenes y musgos están controlados predominantemente por la disponibilidad de agua.

La capacidad de llevar a cabo fotosíntesis a temperaturas frías o bajo cero, y la tolerancia a bajos potenciales hídricos asociada, se muestra claramente superior en las criptógamas que en plantas vasculares. Así mismo, los distintos grupos de criptógamas presentan diferencias en su distribución que parecen reflejar más bien la disponibilidad hídrica que la temperatura. En el presente trabajo se profundiza en estos mecanismos mediante el análisis de las relaciones entre microclima y distribución de las comunidades objeto de estudio, así como de la

respuesta fotosintética de distintas especies de *Usnea* estudiadas bajo condiciones controladas de contenido hídrico, luz y temperatura.

## 4.2 Supervivencia en ambientes antárticos

La Antártida es el continente más frío, más seco, más elevado y ventoso del planeta (Smith 1984). Autores como Green, Kappen, Pannewitz, Sancho y Schroeter estudiaron los principales mecanismos de supervivencia de la vegetación frente a las condiciones antárticas. A continuación se exponen algunos de sus hallazgos más destacados al respecto según fueron recopilados por Green, Schroeter y Sancho (Green *et al.* 2007).

El estudio del funcionamiento de la vegetación antártica se ha basado principalmente en el análisis de las tasas fotosintéticas y respiratorias, que se pueden determinar mediante técnicas de intercambio gaseoso (en inglés, “CO<sub>2</sub>-exchange technics”) bajo distintas condiciones de hidratación, luz y temperatura (en campo o en laboratorio). Actualmente también se ha extendido el uso de técnicas de fluorescencia de clorofila *a*. El objetivo de estos trabajos es determinar cuáles son las condiciones óptimas de funcionamiento de los distintos componentes de la vegetación. La mayor parte de estudios se han realizado sobre líquenes y musgos, que son los elementos dominantes de las comunidades antárticas. Existe cierta variabilidad en las **tasas fotosintéticas** máximas de los líquenes antárticos, pero si las comparamos con otras regiones menos frías en general son bajas. El óptimo de temperatura, es decir, la temperatura a la que la tasa fotosintética es máxima, suele ser relativamente bajo en los líquenes polares. Los líquenes antárticos muestran valores de temperaturas óptimas que oscilan entre 5 y 15 °C. El óptimo de temperatura de las dos especies de plantas vasculares presentes en la Antártida está por encima de los 10 °C (siendo 13 y 19 °C para *C. quitensis* y *D. antarctica* respectivamente), bastante alejados de las condiciones climáticas promedio de la Antártida, mucho más frías. Sin embargo, ambas especies conservan entorno al 30% de la tasa máxima potencial a 0 °C. Se ha sugerido que esta capacidad es la razón de su éxito en la Antártida marítima.

Los ciclos de **congelación-descongelación** son frecuentes en la Antártida. Algunos de sus posibles efectos son: daños en tejidos por congelación intracelular; daños estructurales por congelación extracelular; deshidratación por pérdidas de agua hacia el hielo externo y pérdidas de contenido celular por cambios en fase de membrana. Se han realizado muchos

experimentos de tolerancia a condiciones de frío extremos. Los líquenes en general toleran periodos de congelación intensa (al menos hasta los  $-196^{\circ}\text{C}$ , según varios experimentos), recuperando todas sus capacidades después de la misma. Sin embargo hay también un amplio espectro de tolerancia al frío entre especies y grupos de organismos. Por ejemplo, hepáticas y cianolíquenes, no toleran el frío y quedan prácticamente excluidos de la Antártida continental. También se ha comprobado como algunos líquenes pueden alcanzar tasas fotosintéticas netas positivas a temperaturas bajo cero (por ejemplo, en *Umbilicaria aprina* Nyl. se han llegado a detectar valores positivos de fijación de carbono a  $-17^{\circ}\text{C}$ ). Sin embargo, ésta resistencia a la congelación intensa también se ha observado también en líquenes de regiones templadas, por lo que no parece un carácter exclusivo de los líquenes antárticos. Se ha propuesto que la tolerancia a temperaturas bajo cero tiene la misma base fisiológica que la tolerancia a potenciales hídricos bajos. En primer caso el agua se retira de las células para formar hielo intercelular asociado a “núcleos formadores de hielo”; en el segundo el agua se retira a la atmósfera.

La **disponibilidad hídrica** también puede ser un factor muy limitante en la Antártida. Las precipitaciones van desde unos 500 mm en la región de la Antártida marítima hasta los 50 mm en las regiones más áridas en los Valles Secos. Los líquenes y los musgos son organismos poiquilohídricos, es decir que equilibran su contenido hídrico con el del entorno. Estos organismos generalmente aprovechan toda la superficie del talo para la absorción de agua, presentan una excepcional tolerancia a la desecación, y pueden permanecer grandes periodos con contenidos hídricos muy bajos. A contenidos hídricos muy bajos pasan a un estado de latencia, y a contenidos hídricos muy elevados la fotosíntesis se ve limitada debido a problemas de difusión del  $\text{CO}_2$ . Por tanto los líquenes ven limitada su productividad tanto a elevados como a bajos niveles de hidratación. La respiración responde de manera parecida pero sin la depresión a altos contenidos hídricos. La recuperación después de periodos de latencia en los líquenes es muy rápida tras la hidratación. En la Antártida suelen reactivarse más rápido los líquenes que los musgos, con tiempos de reactivación típicos de una hora y 24 horas respectivamente (aunque depende de la especie). Los líquenes generalmente ocupan hábitats más secos que los musgos. Ejemplares de la Antártida han mostrado valores de contenido hídrico máximo entre 200 y 400% (menores respecto a musgos), aunque no hay muchos datos al respecto.

La temperatura y la disponibilidad hídrica por otro lado, se ven intensamente influidas por la **presencia de nieve** y por las dinámicas de este tipo de precipitación tan frecuente en la



Antártida. La nieve puede proveer de aislamiento eficiente contra el viento y las temperaturas extremas, y se ha demostrado la reactivación de *Usnea sphacelata* R. Br. bajo nieve y a temperaturas bajo cero en la Antártida marítima, donde una cantidad considerable de la luz incidente (entorno al 10 – 30 %) suficiente para saturar la fotosíntesis a bajas temperaturas, puede penetrar hasta 15 cm desde la superficie. Por tanto, es posible que ciertos líquenes realicen una cantidad considerable de fotosíntesis, bajo una capa fina de nieve y mientras las temperaturas son aun negativas. En contraste con la zona marítima, en el continente la temperatura bajo la nieve durante el largo invierno se llega a equilibrar con las bajas temperaturas del exterior, que posteriormente tardan mucho en recuperarse a pesar de la llegada del verano. Por tanto, en este caso, en lugar de propiciar un entorno favorable para el crecimiento, la nieve retrasaría la actividad hasta estar completamente derretida. Un incremento de la cobertura nival por tanto podría tener un efecto muy negativo en el desarrollo de los líquenes por reducción del periodo de crecimiento.

Otro condicionante de la vegetación antártica es el **estrés lumínico**. Se ha observado que la combinación de alta radiación y frío podría causar fotoinhibición en algunas plantas vasculares, así como en algunos musgos y líquenes. Los niveles de radiación fotosintéticamente activa requeridos para alcanzar la saturación pueden ser muy altos en líquenes antárticos ( $1000 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), mientras que los niveles de radiación requeridos para la compensación de la fotosíntesis dependen generalmente de la temperatura del talo. El estrés por alta radiación es una característica más bien de la zona continental, pero no tanto de la Antártida marítima, donde en los momentos de más luz y temperatura los líquenes se secan quedando inactivos. Sin embargo, en la zona Antártida continental, la principal fuente de hidratación es el agua procedente de la fusión de nieve o hielo que, dadas las bajas temperaturas, solo se produce bajo altos niveles de radiación. En la década de los ochenta hubo gran preocupación respecto a la radiación UV debido al agujero de la capa de ozono. Posteriormente se ha concluido que la radiación UV no debe de implicar un estrés para este tipo de vegetación, ya que parecen ajustar su protección en función de la misma. En el caso de los líquenes, los pigmentos y el córtex reducen el nivel de luz dentro del talo y protegiendo al fotobionte de los posible efectos negativos de la radiación UV. En el caso de las plantas también se ha observado escasa fotoinhibición y buena adaptación a elevados niveles de radiación.

En base a la literatura disponible se podría decir, en conclusión, que hay escasa evidencia de que los líquenes y musgos presenten adaptaciones especiales a las condiciones antárticas. Las condiciones de hidratación, luz y temperatura adecuadas tienen que ocurrir a la vez para el

crecimiento vegetal, y todas ellas han de tenerse en cuenta para desentrañar los mecanismos que determinan el desarrollo de la vegetación. Curiosamente, cuando se monitorizan *in situ*, los líquenes rara vez llevan a cabo la fotosíntesis bajo condiciones óptimas. Generalmente alguno de los factores citados es limitante, y por tanto los líquenes parece ser que viven en condiciones sub-óptimas. Por ejemplo, en muchos casos, cuando la disponibilidad de luz es mayor, los líquenes se inactivan por desecación. Otro ejemplo es que gran parte de los periodos de activación ocurren durante la noche, que por la falta de luz sólo se traducen en respiración; o que un exceso de hidratación limita la difusión de gases, limitando la actividad fotosintética; etc. Es decir, que generalmente funcionan en condiciones subóptimas. Otros factores a tener en cuenta que también influyen en la distribución de la vegetación, especialmente cerca de la costa, son la **disponibilidad de nutrientes** y la **salinidad**. La disponibilidad de nitrógeno y fósforo, por ejemplo, está muy influenciada por la presencia de aves y otros animales. En algunos trabajos se ha observado un aumento del número de especies de líquenes, así como de las tasas de crecimiento, con el aumento de nutrientes del suelo, siendo mayor la influencia del fósforo que la del nitrógeno.

El reciente desarrollo de técnicas de fluorescencia de clorofilas actualmente permite registrar los **periodos de actividad** reales en paralelo al registro del microclima. Este tipo de estudios ha revelado la naturaleza extremadamente errática de la hidratación de los talos en función de factores como la microtopografía, la proximidad a la nieve, o el estado de la misma, entre otras condiciones ambientales. Por otro lado, la temperatura del talo resultó ser generalmente mucho más alta que la temperatura del aire, y la mayor parte de la actividad ocurría a temperaturas positivas, y ni siquiera a radiaciones de  $1500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  se observó saturación. Todo esto indica que el periodo de crecimiento podría ser más amplio de lo que se pensaba. Es más, estudios recientes indican que las condiciones en actividad son similares entre regiones climáticamente muy distintas. El resultado de estas observaciones implicaría que los hábitats de esta vegetación no son tan extremos, sino que son bastante constantes a lo largo de amplios rangos latitudinales. En este sentido se ha sugerido que sería la disponibilidad de hábitats apropiados lo que estaría controlando la distribución, más que adaptaciones concretas a las condiciones locales. En el presente trabajo se explora esta posibilidad mediante el estudio comparativo de un mismo tipo de comunidad vegetal (las comunidades de tundra dominadas por *Usnea*) entre dos regiones con distinto macroclima: la región de la Antártida marítima y la región subantártica de Tierra del Fuego.

### 4.3 Los líquenes en las regiones polares y alpinas

Ya hemos visto en las definiciones que, mientras que las “zonas polares” se definen como aquellas regiones más allá del límite latitudinal del bosque, las “zonas alpinas” se definen como aquellas regiones más allá del límite altitudinal del bosque. El rasgo distintivo y común de las regiones polares y alpinas es el frío. En todos los casos la temperatura del mes más cálido está por debajo de 10°C, y generalmente presentan inviernos extremadamente fríos. Sin embargo, existe gran diversidad de climas y paisajes dentro de estas regiones. Los sistemas alpinos pueden ocurrir a cualquier latitud templada o tropical donde la altitud provoca un descenso de las temperaturas. La altitud donde ocurre el límite del bosque depende de la latitud. Generalmente son zonas mejor drenadas, sin permafrost, y que reciben mucha más radiación que las regiones de tundra, siendo estas últimas más nubosas. La zona inmediatamente encima del límite del bosque es la zona “alpina”, similar al bajo ártico o las islas subantárticas, mientras que la zona superior se denomina “nival”, que correspondería con el alto ártico y la Antártida, salvando los detalles de las diferencias climáticas (Naggy & Grabherr 2009).

A medida que la latitud o la altitud siguen aumentando, más allá del límite del bosque, las plantas vasculares siguen disminuyendo. Mientras, las criptógamas, que gracias a su carácter poiquilohídrico pueden soportar tanto las bajas temperaturas como los inviernos oscuros en las regiones polares, aumentan progresivamente para acabar dominando la vegetación. Se estima que en torno a un 8 % de la superficie terrestre presenta vegetación dominada por líquenes, en gran parte debido a las regiones polares y alpinas. La ausencia o escasez de árboles en estas zonas favorece la aparición de líquenes en suelo y rocas. En suelos fríos y mal drenados de tundra pueden suponer hasta un 50 % de la cobertura del suelo, porcentaje que aumenta en los lugares rocosos. En las regiones polares la presencia de líquenes parece estar más limitada por la disponibilidad de rocas que por la capacidad de supervivencia. En el ártico se pueden encontrar líquenes hasta allí donde existen tierras emergidas (hasta los 80 °N); en la Antártida se pueden encontrar más allá de los 85 °S; y por últimos, en las regiones alpinas, el record altitudinal para los líquenes se encuentra a los 7400 m en el Himalaya. Los líquenes en ambas regiones, polares y alpinas, se enfrentan a niveles extremos de algunos factores ambientales como frío extremo; niveles elevados de UV/radiación solar, y en muchos casos bajas precipitaciones (Green 2009).



**Figura 3.** Imágenes de *Usnea aurantiaco-atra* en Isla Livingston.

Los líquenes de distribución “bipolar” presentan una distribución que se restringe a este tipo de ambientes, es decir, que están presentes en ambas regiones polares (Árticas y Antártica) así como en regiones alpinas, pero están ausentes en el resto de ambientes (Nash 2008). Es el caso de los organismos objeto de estudio en el presente trabajo: los líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* (**Figura 3**). Como ya se indicó anteriormente, estos líquenes muestran una distribución que abarca tanto regiones polares (principalmente en la Antártida aunque también en el Ártico) como regiones alpinas (regiones alto-andinas en particular). En el

primero de los casos, la aparición de la tundra se debe a la latitud, en el segundo caso se debe a la altitud. La integración de la región de Tierra de Fuego en el gradiente latitudinal Antártico es un enfoque relativamente novedoso que ya se está considerando en algunos estudios de carácter ecofisiológico (Sancho *et al.* 2011). En esta línea se plantea la presente tesis doctoral cuyos objetivos particulares se exponen a continuación, y se concretan en los distintos capítulos de la memoria.

## 5. Objetivos

La hipótesis principal de la tesis era que la distribución y presencia de los líquenes del género *Usnea* está relacionado con la disponibilidad de determinadas condiciones microclimáticas, más allá de las diferencias macroclimáticas entre las regiones de la Antártida marítima y Tierra del Fuego. Los objetivos principales eran:

- Determinar la identidad de las especies de líquenes del género *Usnea* presentes en las comunidades de tundra antártica (Isla Livingston) y subantártica (Isla Navarino), mediante el estudio filogenético del micobionte.
- Determinar la identidad de las especies de alga que forman parte de dichas especies de liquen, mediante el estudio filogenético del fotobionte.
- Determinar la abundancia y sus variaciones en relación al microclima de los principales grupos de vegetación en dichas comunidades, y de las especies de líquenes del género *Usnea* en particular.
- Realizar un análisis comparativo del comportamiento fotosintético, bajo condiciones controladas de contenido hídrico, luz y temperatura, de las principales especies de *Usnea* encontradas.
- Determinar los periodos de actividad de los líquenes neuropogonoides en estas comunidades, y analizar las diferencias entre las dos localidades seleccionadas.
- Analizar las condiciones microclimáticas asociadas a los periodos de actividad.

Para llevar a cabo dichos objetivos, se realizaron los siguientes estudios. Por un lado, se analizó la diversidad molecular de ambos componentes de la simbiosis líquénica en ambas localidades (Capítulo I). También se analizaron las relaciones entre distribución, microclima y tasas fotosintéticas de las distintas especies tanto en Isla Livingston (Capítulo II) como en Isla Navarino (Capítulo III). Por último, se llevó a cabo la monitorización a largo plazo de los

periodos de actividad de la especie *Usnea aurantiaco-atra* (Jacq.) Bory, y de las condiciones en las que ocurrían dichos periodos de actividad (Capítulo IV). Las relaciones entre clima y vegetación se analizaron por tanto mediante diversas aproximaciones metodológicas, pero siempre con un enfoque ecofisiológico.



## **Metodología general**





## 1. Descripción de las áreas de estudio

### 1.1 Isla Livingston

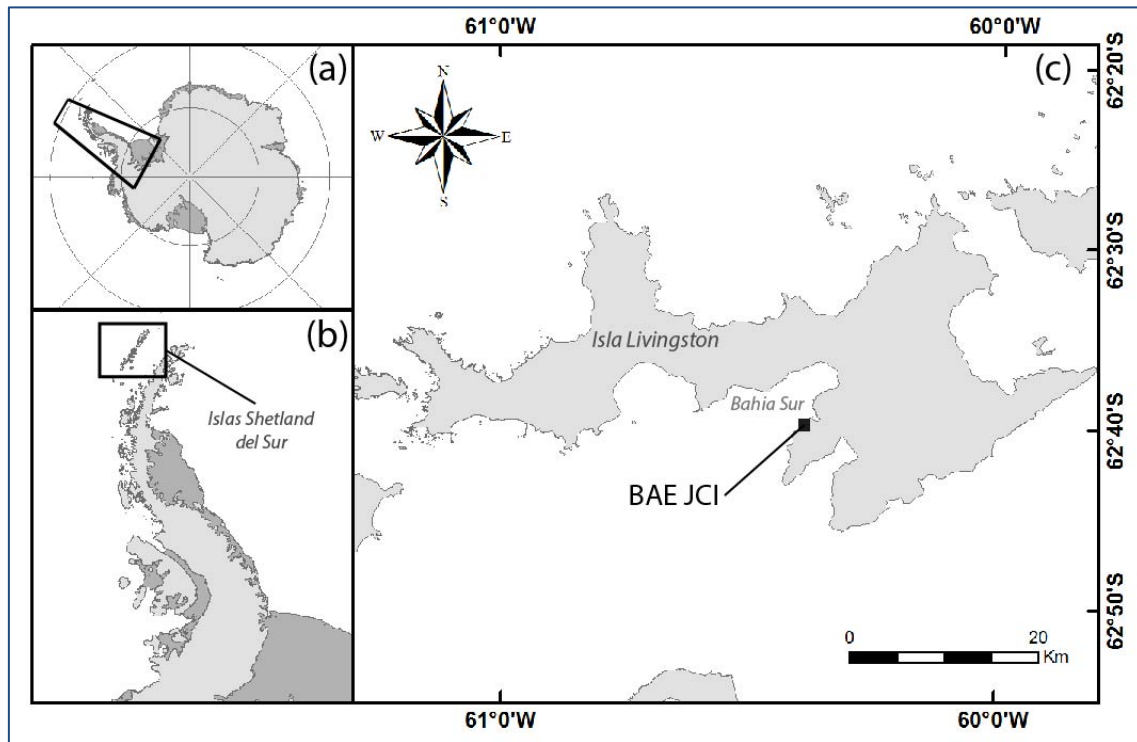
#### Geología y clima

La Isla Livingston (62°39'S, 60°23'W) forma parte de las Islas Shetland del Sur, un archipiélago al noroeste de la Península Antártica que se encuentra a unos 120 km de la misma (**Figura 1**). La zona de la isla investigada en el presente trabajo es un área de unos dos km<sup>2</sup> ubicada en el entorno de la Base Antártica Juan Carlos I (BAE JCI) en la Bahía Sur, un área libre de hielo limitada por el Dique Johnson y la Caleta Argentina, formada por un complejo de playas elevadas y morrenas glaciales, acantilados y roquedos, con el punto más elevado en el Monte Reina Sofía (273m). Bahía Sur queda ubicada entre las otras dos formaciones geomorfológicas más características de la Isla Livingston: las Montañas Friesland (1700m, orientación sureste), y la región relativamente plana de la Península de Byers, al noroeste de la isla (López-Martínez *et al.* 1991; Sàbat *et al.* 1992). La geología del área investigada (Bahía Sur) se corresponde con rocas sedimentarias que se han asignado a una secuencia de esquistos y depósitos turbidíticos pertenecientes a la formación de Miers Bluff (Smellie *et al.* 1984). Esto difiere considerablemente con la geología del resto de la isla Livingston y de las Islas Shetland del Sur, en su mayoría de origen volcánico.

Según la clasificación climática mundial de Köppen-Geiger (Peel *et al.* 2007) el macroclima de este área pertenece a la Tundra Polar. Según la clasificación biogeográfica de los territorios de Peat *et al.* 2007 ésta localidad pertenece a la Provincia Norte de la región de la Antártida marítima, y su clima es frío húmedo oceánico. Por otro lado y según la sinopsis biogeográfica y bioclimática de Rivas-Martínez 2011 ésta localidad pertenecería a la provincia biogeográfica de las Islas Antárticas Atlánticas, y su bioclima se describe como Polar Hiperoceánico.

Los principales parámetros climáticos correspondientes a nuestra zona de estudio en Livingston, tomados de la estación meteorológica de la BAEJCI (Isla Livingston, 12 masl) para el periodo 1994-2000, fueron: Temperatura media anual (maT), -1.3 °C; Temperatura media del mes más cálido (wmT), 2.4 °C; Temperatura media del mes más frío (cmT), -5.6 °C; Temperatura positiva anual (Tp), 7 décimas de °C; y cobertura media anual de nubes de

entorno al 80 % (Bañón 2001 & Bañón *et al.* 2013). La precipitación media anual (maP) en el área es 500 mm basado en datos de la Isla Rey Jorge (Ramos *et al.* 2009). Las precipitaciones en Livingston son en forma de nieve durante casi todo el año (Turner 1997). En verano también son frecuentes las precipitaciones en forma de lluvia, con valores entorno 200 mm, y una humedad relativa del aire generalmente por encima del 90% (Sancho *et al.* 1999).



**Figura 1.** Mapa de la ubicación de la zona de estudio en (a) en el continente Antártico; (b) en relación a la Península Antártica; y (c) en Isla Livingston.

## Vegetación

La vegetación en Isla Livingston consiste en un mosaico de distintos tipos de comunidades con coberturas localmente densas, generalmente dominadas por criptógamas y entre las que abundan los suelos desnudos (**Figura 2**). Dicha vegetación queda restringida a las pocas zonas que quedan libres de hielo en la época estival, que principalmente son la Bahía Sur y elevaciones adyacentes (Monte Reina Sofía, Cerro Johnson y Pico Radio) y la Península Byers. El resto de la isla está cubierta por glaciares prácticamente en su totalidad. Sancho *et al.* (1999) describieron con detalle la vegetación de Bahía Sur, prestando especial atención a los líquenes y a las variaciones locales del relieve, substrato, altitud, y distancia a la costa.

En la mayoría de ambientes de la Isla destaca la presencia de los líquenes saxícolas del grupo Neuropogon del género *Usnea* Dill. ex Adans., que desde el punto de vista de la biomasa son probablemente los más abundantes. Por un lado, proliferan en la zona costera de la Bahía Sur, tanto en las rocas más estables de terrazas ligeramente alejadas de la orilla, como en un amplio rango de altitudes en pendientes verticales y acantilados bajo la influencia marina. Por otro lado, los líquenes de éste grupo también dominan la mayoría de comunidades criptogámicas a distintas altitudes en las zonas más hacia el interior. Cerca de la costa varias especies del género *Umbilicaria* Hoffm. son localmente abundantes, junto con el liquen folioso *Parmelia saxatilis* (L.) Ach. Los líquenes crustáceos alcanzan una elevada diversidad especialmente en los microhábitats donde los macrolíquenes están ausentes, como es el caso de las zonas más basales de las rocas donde diversas especies de *Lecidea* Ach. s.l. y del género *Buellia* De Not. forman una costra densa.

A medida que la competencia con macrolíquenes aumenta, hacia la zona superior de las rocas, el liquen crustáceo *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. se vuelve más abundante. En los posaderos de aves *Ramalina terebrata* Hook. f. & Taylor es el liquen fruticoso dominante junto con otros líquenes foliáceos de los géneros *Physcia* (Schreb.) Michx. y *Xanthoria* (Fr.) Th. Fr., así como algunos musgos típicos de este tipo de ambientes ornitocoprófilos. Si además están influenciados por el espray marino, como ocurre con frecuencia, aparecen predominantemente el liquen *Mastodia tessellata* (Hook. f. & Harv.) Hook. f. & Harv. junto con diversas especies de *Caloplaca* Th. Fr. En las zonas menos elevadas y más próximas a la orilla también destacan algunos géneros de líquenes como *Caloplaca* y *Verrucaria* Scop., que aparecen tanto en guijarros como en rocas bajo la influencia del intermareal y el espray marino. Otras especies más o menos costeras aparecen en los distintos ambientes que ofrecen las terrazas pedregosas de Bahía Sur, entre las que se encuentran *Deschampsia antarctica* Desv. y *Colobantus quitensis* (Kunth) Bartl., las dos únicas plantas vasculares presentes en la Antártida. Las zonas más húmedas de las terrazas aparecen colonizadas por musgos, especialmente de los géneros *Sanionia* Loeske, *Brachythecium* Schimp. y *Bryum* Hedw. En suelos más arenosos son frecuentes los musgos del género *Polytrichum* Hedw., junto con líquenes del género *Peltigera* Willd.



**Figura 2.** Imágenes de la tundra criptogámica antártica dominada por líquenes neuropogonoides en Isla Livingston (Islas Shetland del Sur, Antártida Marítima).

Más hacia el interior, en laderas de colinas suaves de altitudes medias (entorno a los 50-100 m asl), con frecuencia se forma un tapete de criptógamas en el que los líquenes *Stereocaulon alpinum* Laurer, *Sphaerophorus globosus* (Huds.) Vain., *Cladonia* P. Browne spp., *Peltigera didactyla* (With.) J.R. Laundon, *Psoroma hypnorum* (Vahl) Gray, *Physconia muscigena* (Ach.) Poelt y *Coelocaulon epiphorellum* (Nyl.) Kärnefelt; y musgos de los géneros *Sanionia*, *Polytrichum*, *Tortula* Hedw., *Pohlia* Hedw. y *Bartramia* Hedw. En estos lugares están presentes con frecuencia las dos plantas vasculares *D. antarctica* y *C. quitensis*, si bien prefieren condiciones moderadamente secas. Las zonas escarpadas más hacia el interior también están densamente cubiertas por líquenes y musgos. Con el incremento de la altitud los musgos del género *Andreaea* ganan importancia, así como los líquenes *Usnea aurantiaco-atra* e *Himantormia lugubris* (Hue) I.M. Lamb, que aparecen localmente asociados con *Pseudephebe pubescens* (L.) M. Choisy y *Pseudephebe minúscula* (Arnold) Brodo & D. Hawksw. Ocasionalmente aparecen otras especies de criptógamas bajo ciertas condiciones localmente distintas. Por ejemplo, en acantilados interiores aparecen con frecuencia algunas especies de *Umbilicaria* distintas a las de la costa; los cauces de agua de fusión suelen estar bordeados por una vegetación de musgos característica; en las bases de las rocas a elevadas altitudes se pueden encontrar comunidades exclusivamente de hepáticas; y en zonas de acumulación de

nieve temporalmente húmedas aparecen los cianolíquenes *Placopsis contortuplicata* I.M. Lamb y *Leptogium puberulum* Hue.

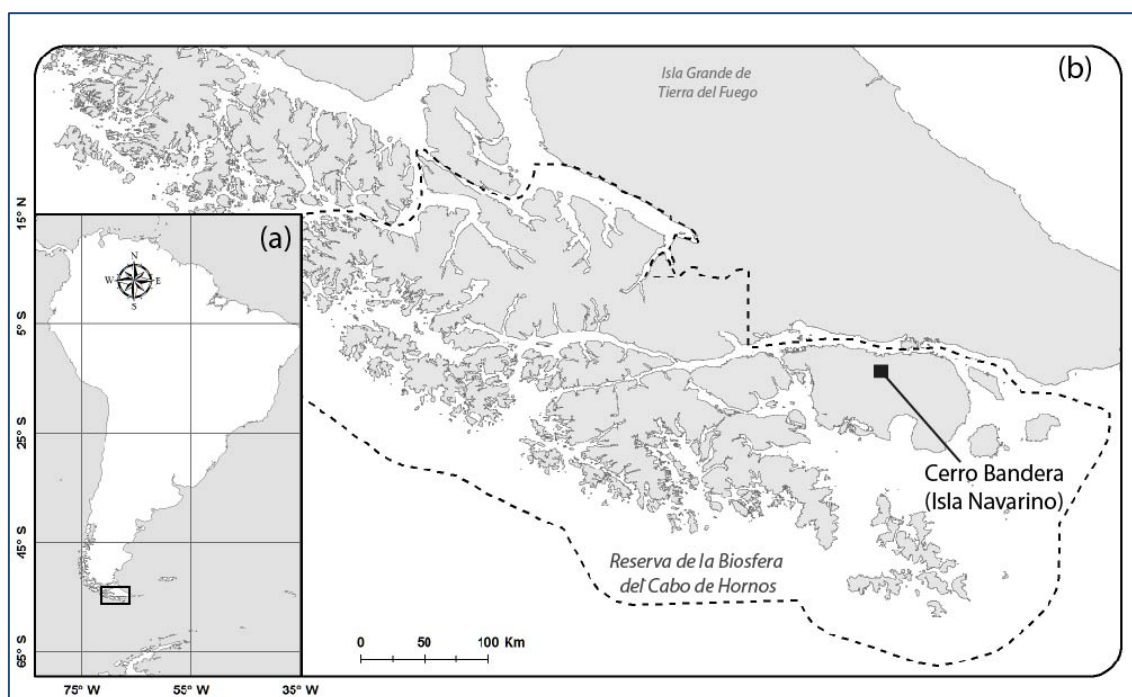
## 1.2 Isla Navarino

### Geología y clima

La Isla Navarino (55°10'S 67°03'W) se encuentra en la región de Magallanes y de la Antártida Chilena, en el Beagle, en la zona más austral de Sudamérica y más próxima a la Antártida (**Figura 3**). Con una extensión de 2500 km<sup>2</sup>, es la tercera isla más grande de Tierra del Fuego, y su abrupto relieve alcanza los 1200 m de altitud en Los Dientes de Navarino. La zona investigada se ubica en una elevación conocida como el Cerro Bandera, comprende altitudes entre los 600 y los 850 m en la zona alpina o alto andina de la Isla, e incluye una serie de crestas que delimitan un área con forma de circo orientado hacia el noroeste. Desde un punto de vista morfo-estructural, estas montañas, al igual que la mayor parte de la isla, forman parte de la Cordillera de Tierra del Fuego. Desde un punto de vista geológico se compone principalmente de esquistos de grado metamórfico bajo, con presencia de intrusiones plutónicas. Los esquistos aparecen fuertemente plegados, y en la zona proceden de lutitas y areniscas de la formación Yaghan (Olivero & Martinioni 2001).

Según la clasificación climática mundial de Köppen-Geiger (Peel *et al.* 2007) el macroclima de este área pertenece a la Tundra Polar. Según la clasificación biogeográfica de los territorios de Latino América de Morrone 2002 ésta localidad pertenece al Reino Austral, región Andina, subregión subantártica, y se encuentra en el límite entre la Provincia del Bosque Magallánico y la del Páramo Magallánico (Morrone 2002). Por otro lado, según la sinopsis biogeográfica y bioclimática de Rivas-Martínez 2011 ésta localidad pertenecería a la provincia biogeográfica Austromagallánica Boreal, y su bioclima se describe como Boreal Hiperoceánico. Los principales parámetros climáticos correspondientes a la estación meteorológica más cercana a nuestra zona de estudio en Navarino (Puerto Williams, 8 masl) son: maT, 6.0 °C; wmT, 9.4 °C; cmT, 2.2 °C; Tp, 722 décimas de °C; maP, 448 mm (Luebert & Plischoff 2006). Dado que el área estudiada en la presente investigación se encuentra entre 650 y 800 m sobre la altitud de la estación meteorológica, hay que tener en cuenta los siguientes efectos de la altitud sobre el clima: que la temperatura disminuye en torno a 0.6 °K por cada 100 m de elevación (Körner

1999); y que en las zonas montañosas de la región la precipitación generalmente cae en forma de nieve, incluso en el verano (Tuhkanen 1992; Méndez *et al.* 2013).



**Figura 3.** Mapa de la zona de estudio y su ubicación en (a) América del Sur; (b) en la Reserva de la Biosfera del Cabo de Hornos (línea discontinua) y en Isla Navarino.

## Vegetación

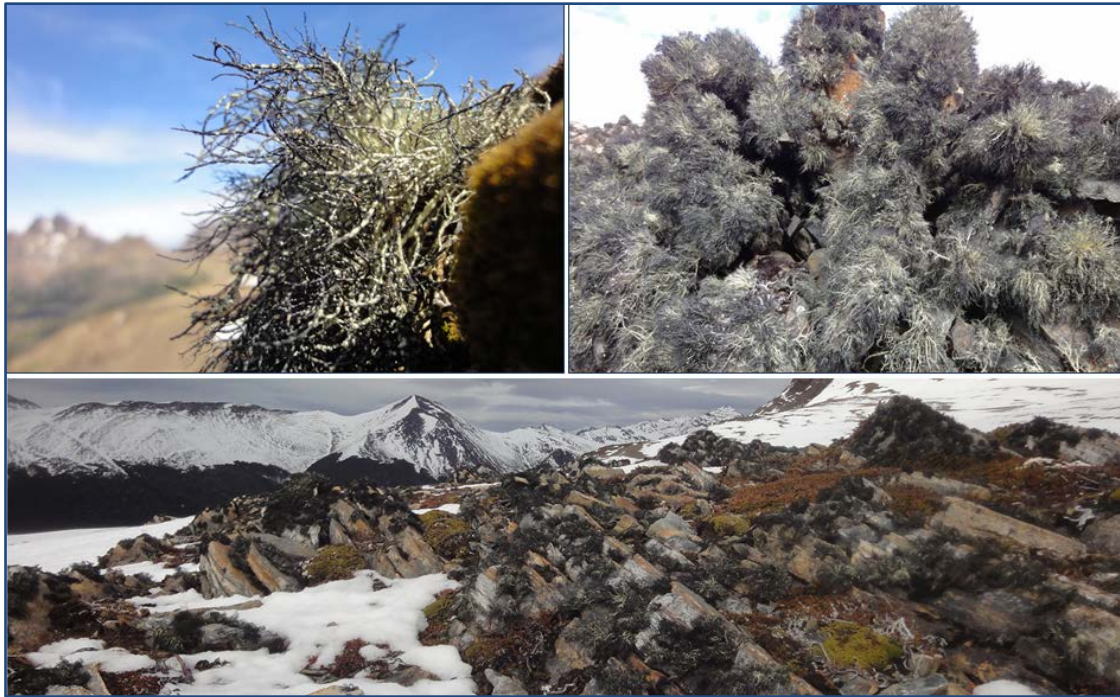
Etayo & Sancho (2008) describieron la vegetación de Isla Navarino, prestando especial atención a los líquenes. La vegetación en Isla Navarino está formada predominantemente por los bosques caducifolios típicos de Tierra del Fuego, en los que dominan las hayas australes del género *Nothofagus* Blume, acompañadas por otras especies arbóreas menos abundantes como el canelo (*Drymis winterii* Forst.). En estos bosques aparecen abundantes musgos cubriendo gran parte de los troncos junto con grandes líquenes epífitos como *Nephroma antarcticum* (Wulfen) Nyl., una de las especies más características de los bosques fueguinos, y otras especies de líquenes, entre los que destacan algunos foliáceos de los géneros *Menegazzia* A. Massal., *Pannaria* Delise ex Bory, *Pseudocyphellaria* Vain., *Psoroma* Ach. ex Michx., *Peltigera* y *Sticta*; los fruticulosos del género *Protousnea*; y el crustáceo *Chrysothrix candelaris* (L.) J.R. Laundon. Los bosques de lengas (*Nothofagus pumilio* (Poepp. & Endl.) Krasser), ñirres (*N. antarctica* (G. Forster) Oerst.) y coigües o coihues (*N. betuloides* (Mirb.)

Blume) cubren las laderas hasta una altura de 550 a 600 m, donde se interrumpen bruscamente en una línea nítida: el límite del bosque.

Por encima del límite forestal se desarrolla la tundra altoandina (**Figura 4**), caracterizada por plantas de crecimiento almohadillado de los géneros *Bolax* Comm. ex Juss. y *Azorella* Lam., entre las que también aparecen otras leñosas de los géneros *Empetrum* L. y *Pernettya* Gaudich.. Algunos líquenes característicos de esta zona son especies principalmente de los géneros *Cladonia*, *Pseudocyphellaria* y *Peltigera*. A partir de unos 700 m de altitud los arbustos se van haciendo más escasos, para dar paso a las comunidades de criptógamas saxícolas que muestran una clara afinidad con la región de la Antártida marítima. Estas comunidades están dominadas por líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* que, con su forma característica de pequeños arbustos, forman bosques en miniatura que albergan otros géneros típicos de regiones alpinas, entre los que destacan *Pseudephebe* M. Choisy, *Cetraria* Ach., *Himantormia* I.M. Lamb, *Thamnolia* Ach. ex Schaer., *Alectoria* Ach. y *Cladonia*. Son también típicos en estas comunidades los musgos del género *Andreaea* con su coloración oscura característica. Las zonas de roca desnuda están colonizadas por numerosas especies de líquenes crustáceos, principalmente de los géneros *Rhizocarpon* Ramond ex DC., *Lecidea*, *Lecanora* Ach., *Tephromela* M. Choisy y *Buellia*.

En las zonas costeras, que también muestran cierta afinidad florística con la Antártida, las comunidades de líquenes aparecen en forma de llamativas bandas con distintas coloraciones en función de las especies predominantes. Por ejemplo, la zona del intermareal aparece dominada por líquenes crustáceos del género *Verrucaria* que forman una banda de coloración negra o marrón oscuro. La siguiente banda, de color anaranjado, se extiende hasta 1 o 2 m sobre el nivel del mar, y está constituida por diversas especies del género *Caloplaca*. Más arriba, aparece una banda de color blanquecino, debido a representantes de los géneros *Ochrolechia* A. Massal. y *Pertusaria* DC. fundamentalmente, o cremoso, con los géneros *Haematomma* A. Massal. y *Ramalina*, que por encima limita o bien con pastos o bien con el bosque directamente. Por último, cabe destacar también la presencia de diversos organismos fijadores de nitrógeno característicos de estas regiones australes. Algunos ejemplos son *Gunnera magallanica* Lam., planta vascular en simbiosis con cianobacterias que aparece en bosques y claros; diversas especies de cianolíquenes del género *Placopsis* (Nyl.) Linds. que ocasionalmente se encuentran en ambientes saxícolas; y musgos simbióticos del género *Sphagnum* L. que forman inmensas turberas a distintas altitudes.





**Figura 4.** Imágenes de la tundra criptogámica subantártica dominada por líquenes neuropogonoides en Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile). En la imagen panorámica (abajo) se puede apreciar al fondo el límite del bosque.

## **2. Material biológico: los líquenes del grupo Neuropogon del Género *Usnea***

En la presente tesis doctoral se realizaron estudios moleculares, de cobertura y ecofisiológicos sobre las distintas especies de líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* encontradas en las dos áreas de estudio anteriormente descritas. El Género *Usnea* Dill. ex. Adans es un taxón de líquenes cosmopolitas y ampliamente distribuidos, de biotipo fruticuloso con ramas de simetría radial, que se distinguen fácilmente como género por la presencia característica de un eje condroide central y ácido úsnico en el córtex. Sin embargo, la determinación de estos líquenes a nivel específico puede resultar bastante compleja, dada la gran variabilidad morfológica y de formas de transición existente dentro del género *Usnea* (Clerc 1998). Entre sus más de 600 especies, algunas se han reunido tradicionalmente bajo el nombre de líquenes neuropogonoides (Walker 1985).

El grupo Neuropogon está compuesto por líquenes del género *Usnea* que se distinguen por los siguientes caracteres: pigmentación oscura del córtex combinada en mayor o menor proporción con la coloración típica usneoide amarilla, apotecios (si están presentes) con discos de pigmentación oscura, córtex denso y grueso, y ocurrencia exclusiva en hábitats saxícolas. En

relación a su distribución, los líquenes neuropogonoides están centrados en regiones polares y frías del hemisferio Sur, donde son más abundantes, incluyendo la Antártida, Sudamérica y Australasia. También se pueden encontrar a altitudes elevadas de los Andes, y finalmente, algunas especies presentan distribución disyunta entre zonas polares Árticas y Antárticas. Sus caracteres distintivos se han interpretado como adaptaciones a las severas condiciones ambientales comunes a estas áreas (como el frío, viento, abrasión y alta exposición a la radiación UV) y parecen haber evolucionado varias veces de forma independiente dentro del género *Usnea*.

La primera monografía del grupo fue realizada por Lamb (1964), y posteriormente fue revisada por Walker (1985) que aceptó 15 especies (**Tabla 1**) y discutió su estatus “subgenérico”. Desde entonces el grupo se ha tratado también como una sección (Ohmura & Kanda 2004) o un género aparte (Articus 2004), pero finalmente análisis filogenéticos más amplios revelaron que el grupo *Neuropogon* es polifilético y está anidado dentro del género *Usnea* (Wirtz *et al.* 2006, Truong *et al.* 2013). A pesar de esto último, el término “líquen neuropogonoide” es un término aceptado para referirse a las especies saxícolas y con pigmentación oscura dentro del Género *Usnea*. Wirtz y colaboradores revisaron la circunscripción de diez de las quince especies descritas por Walker en base a los métodos de cohesión para el reconocimiento de especies, que combina datos genéticos con datos anatómicos y morfológicos (Wirtz *et al.* 2008, 2012; Lumbsch & Wirtz 2011). A raíz de estos trabajos, se describieron cuatro especies nuevas (*Usnea lambii* (Imshaug) Wirtz & Lumbsch, *U. messutiae* Wirtz & Lumbsch, *U. pallidocarpa* Wirtz & Lumbsch, *U. ushuaiensis* (I.M. Lamb) Wirtz, Printzen & Lumbsch), y se propuso la sinonimización de algunos taxones (como es el caso de *U. antarctica* Du Rietz y *U. aurantiacatra* (Jacq.) Bory; y el de *U. trachycarpa* (Stirt.) Müll. Arg. y *U. subantarctica* F.J. Walker), cambios que Wirtz y colaboradores posponen hasta que el grupo haya sido examinado por completo, como se detalla en el ANEXO A. Es por ello que a lo largo del presente trabajo se tendrán en cuenta tanto las bases asentadas en la monografía de Walker (1985), que unificó toda la información del grupo en lo que respecta a su morfología, anatomía y distribución, como las puntualizaciones realizadas por parte de Wirtz y colaboradores en base a sus estudios filogenéticos.

**Tabla 1.** Especies del género *Usnea* incluidas en el grupo Neuropogon y área de distribución de las mismas según la monografía de Walker (1985). Las distribución de cada especie en las distintas regiones se sintetizó mediante las siguientes categorías: área de distribución principal (+++); área con observaciones ocasionales (+); área de presencia incierta (\*); y ausencia de la especie en el área (-).

Región	Antártida			América del Sur		Hemisferio Norte		Australasia		África
Subregión	Antártida continental	Península Antártica e islas adyacentes	Islas subantárticas	Sudamérica austral y/o subantártica	Región norte de la Cordillera de los Andes	Norte América y América Central	Regiones e islas circumpolares Árticas	Nueva Zelanda	Tasmania (Australia)	África austral
<i>Usnea acanthella</i>	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
<i>Usnea acromelana</i>	-	+	(*)	+	(*)	-	-	+++	+	-
<i>Usnea antarctica</i>	+	+++	+++	+	-	-	-	+	-	-
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	-	+++	+	+++	-	-	-	-	-	-
<i>Usnea ciliata</i>	-	-	-	-	-	-	-	+++	(*)	-
<i>Usnea duriezi</i>	-	-	-	+	+++	-	-	-	-	-
<i>Usnea neuropogonoides</i>	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-
<i>Usnea patagonica</i>	-	-	-	+++	+	-	-	-	-	(*)
<i>Usnea perpusilla</i>	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-
<i>Usnea pseudocapillaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	+++	(*)	-
<i>Usnea sphacellata</i>	+++	+	-	+	-	+	+++	+	-	-
<i>Usnea subantarctica</i>	-	+++	(*)	+	-	-	-	-	-	-
<i>Usnea subcapillaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	+++	+	-
<i>Usnea taylorii</i>	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
<i>Usnea trachycarpa</i>	-	(*)	+++	+++	-	-	-	-	(*)	-

### 3. Fundamentos metodológicos

La presente tesis doctoral es un trabajo multidisciplinar, que a lo largo de sus capítulos incluye diversas metodologías, tanto de campo (estudios de cobertura y distribución de especies, monitoreo de microclima y actividad in situ) como de laboratorio (estudios moleculares y medidas fisiológicas bajo condiciones controladas). A continuación se presentan brevemente las distintas metodologías, para posteriormente, en cada uno de los capítulos, detallar los protocolos concretos utilizados en cada uno de los casos.

#### 3.1 Estudios filogenéticos del micobionte y del fotobionte

La simbiosis líquénica es una asociación obligada con gran éxito evolutivo y ecológico. Consta de un componente heterótrofo (el micobionte), que generalmente pertenece a la división Ascomycota de los hongos; y un componente fotosintético (el fotobionte), que generalmente son algas verdes, aunque también pueden ser cianobacterias, o ambas (Nash 2008 ). Se trata por tanto de organismos complejos, cuya clasificación se basa en la identidad del componente mayoritario, el micobionte, que es el que da nombre al líquen. Las familias *Graphidaceae* y *Parmeliaceae*, representan la mayor parte de la diversidad de líquenes, y agrupan unas 2500 especies (Kirk *et al.* 2008). Los líquenes del género *Usnea* pertenecen a *Parmeliaceae*, y como el resto de taxones de la familia, se asocian con fotobiontes del género *Trebouxia*. Estas algas verdes son las más comunes en la simbiosis líquénica, y se asocian con más del 20 % de las especies de hongos liquenizados (Rambold & Triebel 1992). El estatus filogenético del grupo *Neuropogon* del género *Usnea*, y la delimitación de las principales especies que lo componen, ha sido revisada recientemente (Wirtz *et al.* 2006, Wirtz *et al.* 2008, 2012; Lumbsch & Wirtz 2011). Los principales hallazgos de dichas revisiones se exponen en el **ANEXO A** del presente trabajo. Sin embargo, todavía hay poca información sobre el fotobionte de los líquenes neuropogonoides a nivel específico (Cao 2015).

El marcador molecular ITS (Internal Transcribed Spacer) es una de las secuencias más populares para la inferencia filogenética en plantas a nivel genérico e infragenérico (Alvarez & Wendel 2003). Su popularidad se debe a diversos motivos. Es una secuencia de herencia biparental, dado que reside en el núcleo, frente a otros marcadores ubicados en plastos y de transmisión monoparental y por tanto no tan útiles para la reconstrucción filogenética. También es un marcador universal que se puede amplificar en la mayor parte de hongos y

plantas prácticamente con los mismos cebadores. Presenta un gran número de copias, por lo que puede ser fácilmente aislado. Muestra una elevada uniformidad intragenómica, ya que las posibles mutaciones que sufre son homogenizadas por diversos mecanismos. Y por último, muestra suficiente variabilidad intergenómica como para realizar inferencias a nivel específico, genérico o incluso de familia.

Los avances en las técnicas moleculares están propiciando grandes avances en el conocimiento de los patrones de especificidad y selectividad entre biontes (Leavitt *et al.* 2015). En el **Capítulo I** se analizan dichos patrones para varias especies de líquenes del grupo *Neuropogon* del género *Usnea*. Para ello se secuenció el marcador molecular ITS de ambos biontes, hongo y alga, en más 200 muestras de *Usnea* pertenecientes a las distintas localidades estudiadas.

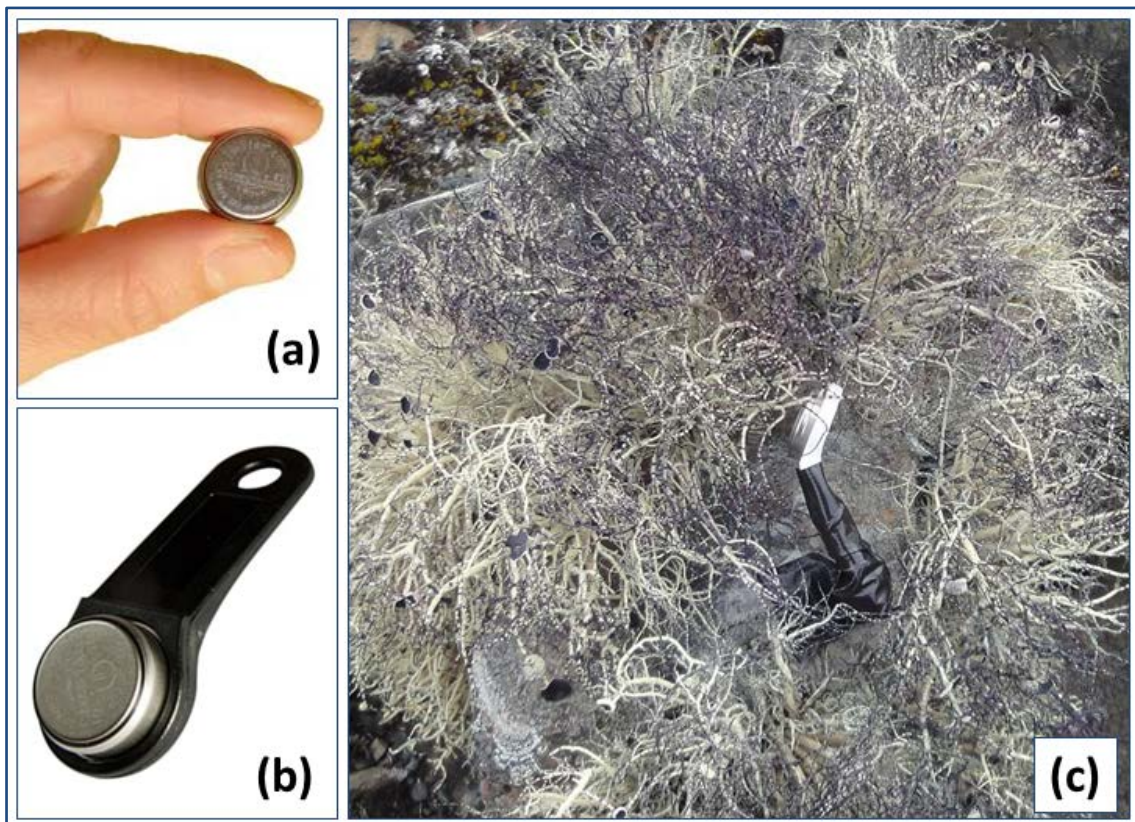
### **3.2 Estudios de cobertura y microclima**

Los estudios de cobertura se plantearon en la línea de los trabajos de Valladares & Sancho 2000, y de Pintado *et al.* 2001, que analizaron en Isla Livingston el efecto sobre las comunidades de líquenes de diversos factores como son la disponibilidad de nutrientes y la temperatura. Como se detalla en los **Capítulos II y III**, el objetivo era analizar la distribución de los líquenes del grupo *Neuropogon* del género *Usnea* en relación a factores microclimáticos que incluyeron la temperatura, la disponibilidad hídrica y la presencia de nieve, y se llevaron a cabo en las localidades de Isla Livingston e Isla Navarino respectivamente.

Para cada una de las localidades se definió un área de trabajo similar, de unos dos km<sup>2</sup>, representativa de la tundra dominada por dichos líquenes. En ambos casos, el área de estudio presentaba un gradiente altitudinal de unos 250 m de desnivel. Los suelos desnudos se extendían ampliamente en el área de estudio, como es habitual para este tipo de vegetación de tundra, por lo que previamente a la selección de los puntos de muestreo fue necesaria la identificación de manchas de vegetación. Una vez identificadas las manchas de vegetación se definieron 15 puntos, los cuales se distribuyeron de forma estratificada entre las distintas categorías de (1) bandas altitudinales; (2) unidades mesotopográficas; (3) tamaños de roca; y (4) pendiente del sustrato; como se detalla en los **Capítulos II y III**.

En cada uno de los puntos de muestreo se realizaron una serie de inventarios de cobertura mediante el uso de un marco o “quadrat” de 50x50cm, que a su vez estaba subdividido

mediante una rejilla en celdas de 25x25 cm. Para cada una de las celdillas del quadrat, se estimó la cobertura en porcentaje (%) de las distintas especies y grupos de vegetación estudiados, calculada como la proporción de suelo cubierta por cada uno de ellos. Además de los macrolíquenes, también se cuantificaron el resto de grupos de vegetación, agrupados en las siguientes categorías: (1) plantas vasculares pulviniformes (en adelante “cojines”) y leñosas rastreras; (2) gramíneas y otras herbáceas; y (3) briófitos. En este caso tan solo se identificó, a modo descriptivo, el género de los taxones más representativos. En el caso de los líquenes, se estudió la cobertura de las distintas especies de *Usnea* (objeto principal de nuestro estudio) y de otros géneros de macrolíquenes que mostraran un porcentaje de cobertura de al menos un 1% de la celda de 25x25 cm, excluyendo los líquenes de biotipo crustáceo. Debido a la dificultad de identificación *in situ* de algunas especies del género *Usnea*, en nuestro caso de gran interés, un número representativo de muestras de cada punto de muestreo fue conservado y posteriormente analizado a nivel morfológico y molecular.



**Figura 5.** Imagen de un data-logger Ibutton<sup>®</sup> Maxim (a) antes de ser instalado; (b) montado sobre su soporte; y (c) instalado entre talos de *Usnea* durante el la caracterización microclimática de la tundra criptogámica en Isla Livingston (2012).



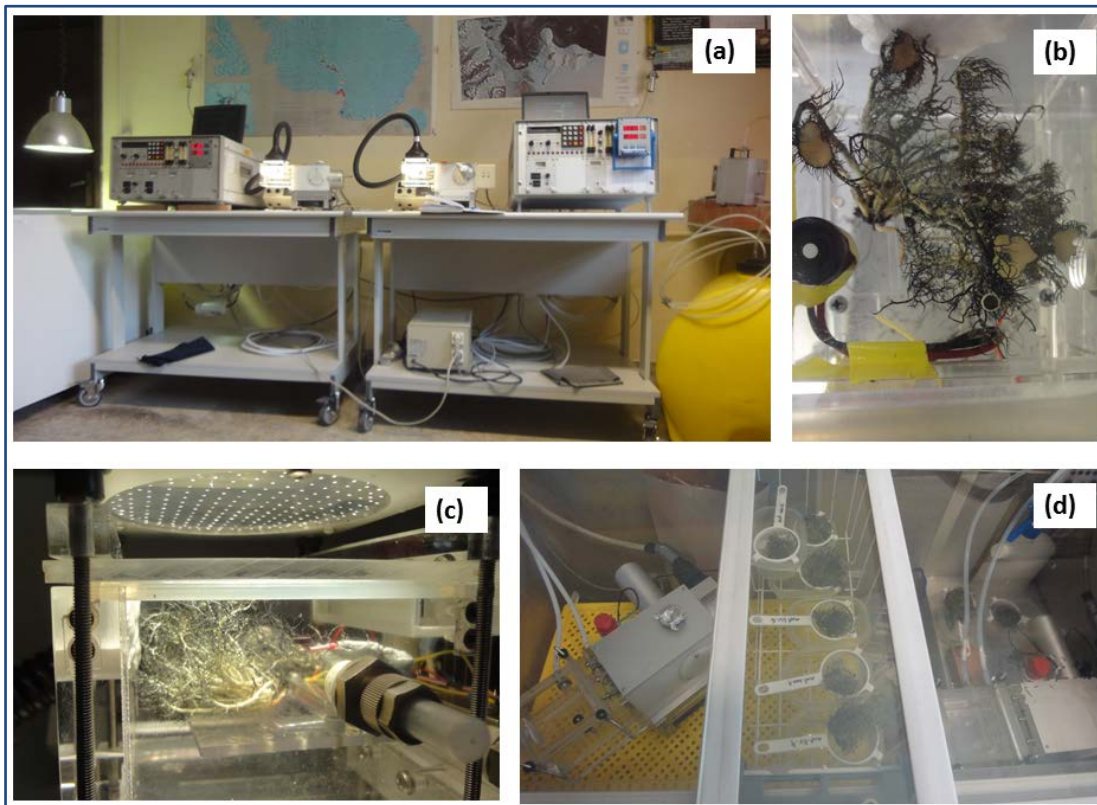
Paralelamente a los estudios de cobertura se realizó una caracterización microclimática de las comunidades de tundra objeto de estudio, mediante el uso de sensores o loggers de tipo Ibutton® (**Figura 5**). Sensores de este tipo se habían utilizado con éxito durante largos periodos en algunas de las regiones más frías de la Antártida (Stomeo *et al.* 2012). En cada una de las localidades de estudio se instalaron 10 sensores, repartidos en base a las mismas categorías los estudios de cobertura (es decir, entre las distintas bandas altitudinales; tamaños de roca; y pendientes del sustrato). En todos los casos, los sensores se instalaron en el entorno inmediato o incluso en contacto con talos de los líquenes objeto de estudio (**Figura 5**), y fueron programados para registrar los niveles de humedad relativa y la temperatura cada tres horas. Se dejaron en funcionamiento durante el periodo de un año, pasado el cual se procedió a descargar los datos acumulados en cada uno de los sensores. De este modo se determinaron las variaciones locales dentro de cada área de estudio de las condiciones microclimáticas de humedad y temperatura, que servirían para interpretar la distribución de las distintas especies y grupos de vegetación estudiados en relación al microclima en Livingston (**Capítulo II**), en Navarino (**Capítulo III**) y entre ambas localidades (**Capítulo IV**).

### 3.3 Intercambio gaseoso

La fotosíntesis es el proceso mediante el cual los organismos autótrofos fijan el CO<sub>2</sub> atmosférico utilizando energía lumínica para sintetizar hidratos de carbono mediante un proceso de reducción. De este modo obtienen y acumulan la energía química necesaria para su supervivencia, crecimiento y reproducción. Durante la fase lumínica de la fotosíntesis la energía lumínica de los fotones es capturada y almacenada en moléculas acumuladoras de energía (ATP), que posteriormente, en la fase quimiosintética, se van a utilizar para fijar CO<sub>2</sub> y producir hidratos de carbono. Durante la respiración se produce el proceso contrario, que consiste en la oxidación de dichas moléculas para liberar y consumir la energía acumulada, proceso en el cual se libera CO<sub>2</sub>. Las medidas de intercambio gaseoso permiten determinar las tasas fotosintéticas y respiratorias de diversos organismos en condiciones naturales (*in situ*), así como los valores óptimos bajo condiciones controladas de laboratorio. En este caso dichas medidas se basan en el estudio de las variaciones de CO<sub>2</sub> atmosférico debidas a la actividad biológica. Originalmente se ideó para estudiar plantas superiores pero también se puede adaptar al estudio de líquenes y musgos. Lange & Kappen (1972) asentaron las bases del uso de la metodología de intercambio gaseoso en líquenes antárticos, cuya aplicación sobre los líquenes del grupo *Neuropogon* del género *Usnea* fue optimizada por Kappen (Kappen 1983,

1985, 1989, 1990; Kappen & Redon 1987; Kappen *et al.* 1987; Kappen & Breuer 1991) y Schroeter (Schroeter *et al.* 1995).

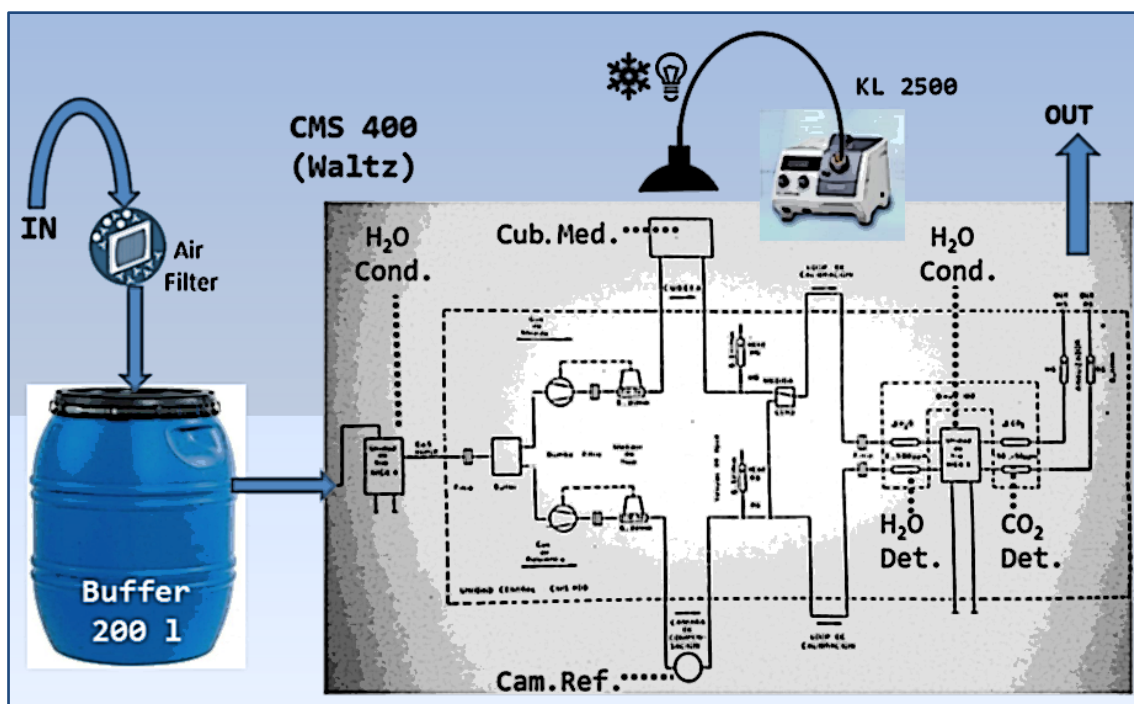
El presente trabajo se basa en el sistema de medida de intercambio gaseoso abierto, y el aparato de medida utilizado fue el CMS400 (Cuvette MiniSystem 400, Waltz, Alemania); (**Figura 6**). El funcionamiento de dicho sistema se basa en el uso de una Analizador de Gas por Infrarrojos (IRGA, Binos 100, Leybold-Heraeus, Alemania), que detecta las variaciones de concentración de CO<sub>2</sub> (en ppm, partes por millón) entre un circuito de medida y uno de referencia. El circuito de medida consta de una cubeta con un liquen activo en su interior, que mediante su metabolismo (respiratorio y fotosintético) podría alterar la concentración de CO<sub>2</sub>; y el circuito de referencia consta de una cubeta del mismo volumen pero sin muestra alguna en su interior, y por tanto una concentración de CO<sub>2</sub> basal estable.



**Figura 6.** Imágenes del laboratorio de intercambio gaseoso: (a) vista frontal de dos aparatos CMS400 (Walz, Alemania); (b) detalle de la cubeta vista desde arriba y con un ejemplar de Usnea en el interior; (c) detalle de la cubeta vista desde el lateral y con un ejemplar de Usnea en el interior; (d) detalle de la cámara refrigeradora utilizada para realizar medidas en frío, con dos cubetas en funcionamiento y una serie de muestras en el interior.



Cada uno de los circuitos constaba de los siguientes elementos (**Figura 7**): una vía entrada de aire previamente homogenizado; una cubeta de plexiglás de 500 ml de volumen en el caso del circuito de medida, o una cámara de compensación del mismo volumen en el caso del circuito de referencia; un detector de concentración de agua; un condensador de agua; un detector de concentración de CO<sub>2</sub>; y una vía de salida. El aporte lumínico sobre la cubeta de medida se realizó mediante una fuente de luz fría (Lamp.) compuesta por una lámpara KL 2500 LCD (Schott, Alemania) y una fibra óptica para la transmisión de luz sin transmisión de calor (Walz, Alemania). Con el objeto de evitar los posibles efectos de las variaciones naturales de la composición del aire, éste se hacía pasar, previamente a la entrada en el sistema CMS 400, a través de los siguientes elementos: un filtro de partículas, para evitar la entrada de partículas en suspensión; un condensador de agua inicial (Waltz, Alemania), para controlar la humedad relativa del aire de entrada; y un bidón de 200 l de volumen, como buffer para amortiguar posibles picos puntuales de la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico, que generalmente oscilaba entorno a las 390 ppm.



**Figura 7.** Esquema de la instalación de intercambio gaseoso utilizada, que constaba de: una vía de entrada (IN); un filtro de partículas (Air Filter); un amortiguador de variaciones de CO<sub>2</sub> atmosférico; (Buffer de 200 l); un aparato de medida CMS 400 (Waltz); una lámpara de luz fría KL 2500 LCD (Schott, Alemania); y una vía de salida (OUT). En el diagrama del CMS 400 (Waltz), a su vez se indican: el condensador de agua previo a la entrada al sistema (H<sub>2</sub>O Cond.); la cubeta del circuito de medida (Cub. Med); la cámara de compensación del circuito de referencia (Cam.Ref.); el detector de partículas de agua (H<sub>2</sub>O Det); el condensador de agua (H<sub>2</sub>O Cond.); y el detector de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub> Det.).

El funcionamiento del aparato es el siguiente (**Figura 7**). El aire homogenizado sale desde el buffer y se divide entre los dos circuitos (de medida y de referencia) por el efecto de sendas bombas de succión, que se pueden regular a un flujo constante, en este caso de 600 ml min<sup>-1</sup>. En el caso de haber una muestra activa en la cubeta de medida, la concentración de partículas de CO<sub>2</sub> y de H<sub>2</sub>O en el aire se verá modificada con respecto a la de la cubeta de referencia. Antes de determinar la concentración de CO<sub>2</sub> resultante, es necesario eliminar la humedad del aire, ya que las partículas de H<sub>2</sub>O (más abundantes y con picos de absorción en la misma banda de IR que el CO<sub>2</sub>) podrían interferir en la medida. Una vez retirada el agua mediante el condensador, el aire pasa por el detector de CO<sub>2</sub> IRGA (Infra Red Gas Analyzer), que va a analizar la concentración de CO<sub>2</sub> en partes por millón (ppm) presentes en el aire para cada uno de los circuitos. Como el flujo de aire es continuo, y las medidas de concentración de CO<sub>2</sub> también, el resultado es un seguimiento prácticamente a tiempo real del comportamiento de la muestra estudiada. Durante todo el proceso las condiciones de luz, humedad y temperatura en el interior de la cubeta de medida pueden ser, o bien las condiciones ambientales, o bien condiciones controladas como ha sido el caso del presente trabajo.

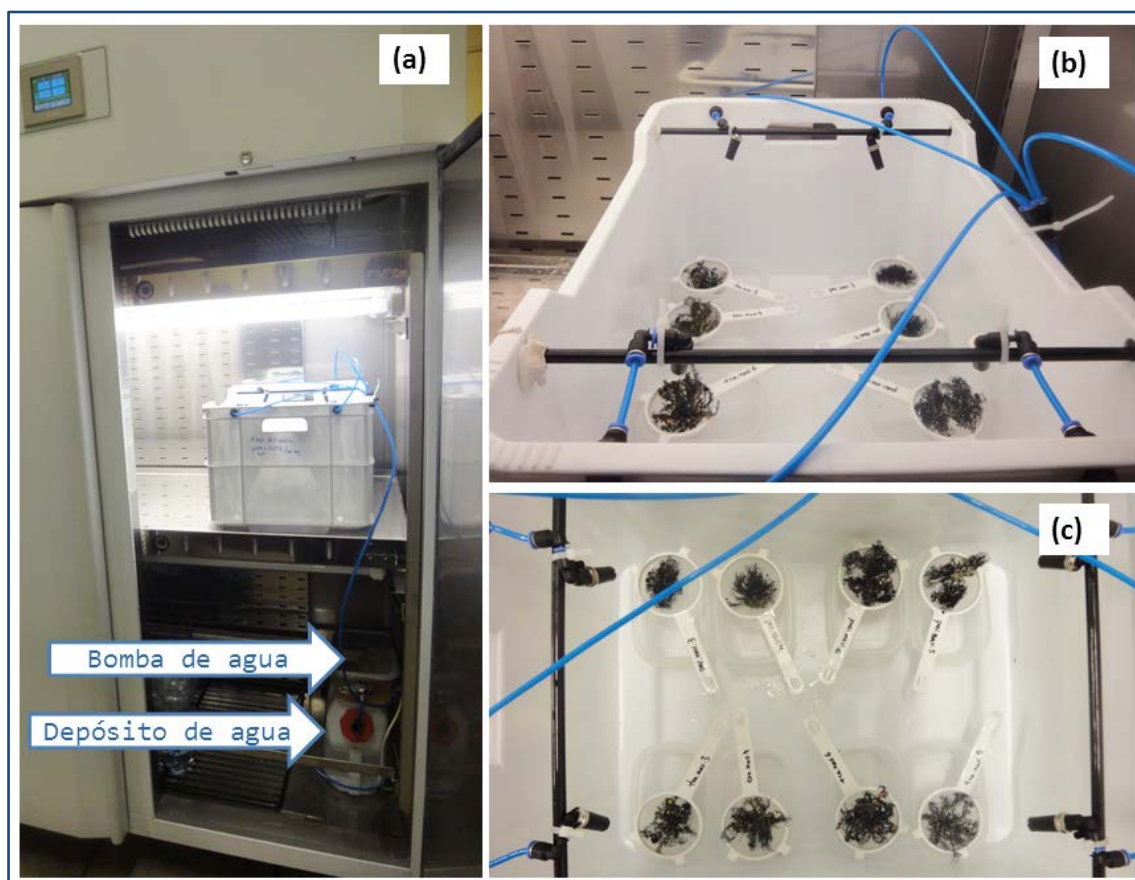
El resultado se puede expresar en base al peso seco, a la superficie, o al contenido en Clorofilas. En el presente trabajo, la fotosíntesis neta se ha calculado en relación al peso seco (como kg CO<sub>2</sub> fijado por cada gramo de peso seco de liquen y por segundo) mediante la siguiente fórmula, donde las dos constantes utilizadas fueron el factor de conversión de ppm de CO<sub>2</sub> a unidades de mg CO<sub>2</sub> por m<sup>3</sup> (1.811), y el peso molecular del CO<sub>2</sub>, que se corresponde con el peso de 1 mol de CO<sub>2</sub> en g (44.01):

$$A \left( \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{kg ps}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \right) = \frac{\left( \text{ppm CO}_2 \times \frac{1.811}{44.011} \right) \times \left( \frac{F \text{ (ml/min)}}{60 \times 10^3} \right)}{\left( \frac{\text{ps (g)}}{10^3} \right)}$$

El resultado puede ser positivo, negativo o nulo, en función del balance de CO<sub>2</sub> resultante entre los procesos de fotosíntesis y respiración. Por ejemplo, si la muestra tan solo estuviera respirando, estaría aportando CO<sub>2</sub> a la atmósfera en el circuito de medida, por lo que el balance de CO<sub>2</sub> sería positivo. Si la muestra estuviera respirando y fotosintetizando a la misma tasa, el balance de CO<sub>2</sub> sería nulo. Y si la muestra estuviera fotosintetizando a una tasa mayor que la tasa de respiración, entonces el balance de CO<sub>2</sub> sería negativo. La respuesta será

diferente en función del organismo estudiado y las condiciones aplicadas, y esto es lo que se quiere determinar aquí.

Para la reactivación de las muestras, previa a las medidas de intercambio gaseoso, se diseñó un sistema de riego programable específicamente adaptado a las necesidades del experimento (**Figura 8**). El sistema, instalado dentro de una cámara de crecimiento Fitotron® SGC 120 (Reino Unido), constaba de una serie de válvulas de pulverización, un depósito de agua mineral y una bomba programable. Los detalles técnicos sobre los protocolos utilizados para la revitalización y las medidas de intercambio gaseoso se exponen en los **Capítulos II y III**.



**Figura 8.** Sistema de revitalización programable, que constaba de: (a) una cámara de crecimiento Fitotron® SGC 120 (Reino Unido) con un depósito de agua mineral, una bomba y un cajón de riego; (b) detalle de la instalación de riego y; (c) vista superior del interior del cajón de riego.

### 3.4 Monitorización de periodos de actividad y microclima

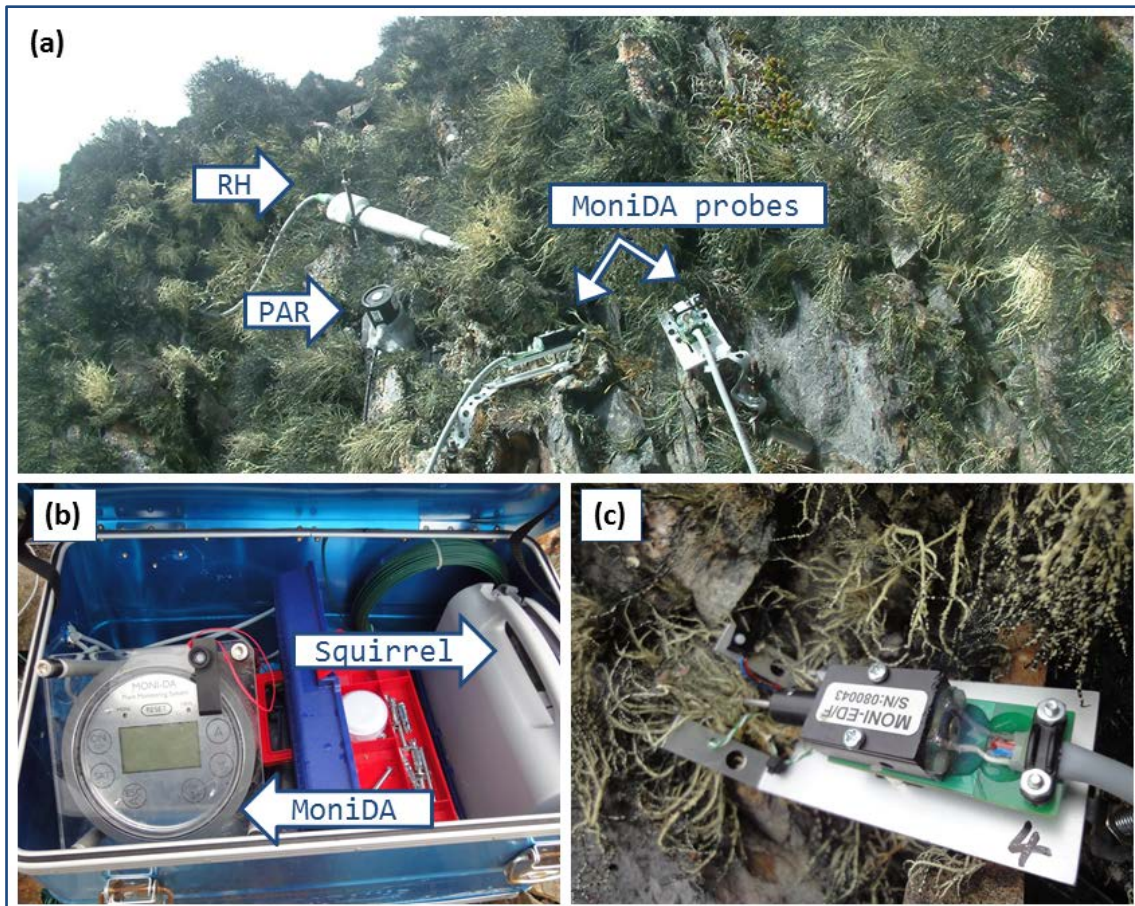
Los líquenes son organismos poiquilohídricos, por lo que la activación de su metabolismo depende de las condiciones ambientales. Los periodos de actividad y latencia en líquenes se pueden monitorizar a través de las técnicas de fluorescencia de clorofila. Las moléculas de clorofila son receptores de luz que se encuentran asociados con otros pigmentos formando los fotosistemas (PSI y PSII), que a su vez se localizan en los cloroplastos. El proceso fotosintético comienza cuando un fotón de luz es absorbido por los pigmentos, provocando la excitación de los electrones en las moléculas de clorofila en el PSII. En la mayoría de los casos, sólo una parte de la radiación absorbida sigue la vía fotosintética, mientras que el resto se disipa en forma de calor y de fluorescencia. En base a esto, la fluorescencia de clorofila *a* (Chl *a*) se utiliza como indicador del transporte electrónico en plantas (Schreiber *et al.* 1995). En líquenes la fluorescencia de Chl *a* se utiliza tanto para evaluar el estado del PSII como para monitorizar los periodos de actividad, ya que en los periodos de latencia no se observa este proceso.

El MoniDA® (Walz, Alemania) es un aparato especialmente diseñado para la monitorización a largo plazo y remota de periodos de actividad en líquenes mediante la fluorescencia de Chl *a* (Raggio *et al.* 2016). Consta de una unidad central y de una serie de fibras que pueden emitir un pulso de luz saturante sobre la muestra de liquen, así como captar la fluorescencia emitida por la misma en caso de que estuviera activa (**Figura 9**). La unidad central es programable, por lo que se puede dejar largos periodos en funcionamiento registrando periódicamente datos de actividad o inactividad. Tiene una batería que a su vez se abastece mediante una placa solar, por lo que en principio tiene autonomía energética. El aparato está diseñado para soportar durante largos periodos las condiciones climáticas extremas propias de ambientes polares y alpinos, como son las bajas temperaturas, las altas radiaciones, y las precipitaciones intensas en forma de lluvia y nieve, pruebas que ha superado satisfactoriamente en la Antártida marítima y continental (Raggio *et al.* 2016). Además de registrar los datos se puede complementar con un dispositivo de transmisión vía satélite que permite la monitorización en lugares remotos y la recepción de los datos sin tener que desplazarse hasta la zona de estudio (tan solo para la instalación y trabajos de mantenimiento).

Las medidas de fluorescencias se expresan mediante el rendimiento cuántico o Yield ( $\Phi$ ), un parámetro que se calcula en base a la fluorescencia basal de la muestra ( $F_0$ ) y la fluorescencia emitida por la muestra ( $F_m$ ) al recibir un pulso de luz saturante (Maxwell & Johnson 2000). Si

en el momento de recibir el pulso de luz saturante la muestra se encontraba realizando la fotosíntesis, entonces va a destinar parte de la energía a la cadena de transporte electrónico y parte a las vías de disipación. Si la muestra estaba en oscuridad y por tanto no estaba realizando la fotosíntesis, entonces los aceptores de electrones primarios están totalmente relajados, la cadena de transporte electrónico se bloquea, y toda la energía se disipa en forma de fluorescencia y calor, dando los valores máximos de Yield. Los valores máximos de Yield se miden después de un periodo de oscuridad de al menos veinte minutos, cuando el PSII está totalmente relajado. En plantas vasculares el Yield máximo generalmente está entorno al 0.8, mientras que en líquenes oscila entre 0.45 y 0.65, para distintas especies (Kappen *et al.* 1998a). Cuando un líquen está en estado de latencia por deshidratación (inactivo), no emite ninguna fluorescencia, y el Yield es igual a cero. Sin embargo, cuando el líquen está suficientemente hidratado como para activarse metabólicamente, entonces sí responde a estímulos lumínicos. De este modo, podemos saber si un líquen está activo o inactivo en función de si emite o no fluorescencia.

Los datos de actividad se analizaron en relación al microclima a modo de estudio comparativo entre ambas regiones estudiadas, Isla Livingston e Isla Navarino, como se detalla en el **Capítulo IV**. Además de los datos de actividad/inactividad, el MoniDA se complementó con un data-logger Squirrel® (Grant Instruments®, Reino Unido) que registraba las condiciones ambientales de luz, humedad temperatura. El organismo monitorizado fue el líquen *Usnea aurantiaco-atra*, que era la especie mayoritaria en las comunidades de tundra estudiadas. En cada una de las localidades se dispuso de sendas “estaciones” de monitorización de microclima y actividad. Cada una de las estaciones constaba por tanto de un MoniDA® y un Squirrel® que registraban periódicamente y de forma sincronizada (cada media hora) datos de actividad y microclima.



**Figura 9.** Imágenes de (a) la instalación de MoniDA (Walz, Alemania) en Isla Navarino con los sensores de humedad relativa (RH), radiación fotosintéticamente activa (PAR), y actividad en líquenes (MoniDA probes); (b) central de MoniDA y Squirrel; y (c) detalle del terminal de monitorización de actividad instalado sobre un talo de *Usnea*.





## Capítulo I

**Selectividad y especificidad entre biontes en cinco especies de líquenes neuropogonoides (Género *Usnea*) de la tundra criptogámica antártica y subantártica.**





## 1. Introducción

El sur de Sudamérica es la extensión natural del gradiente latitudinal Antártico y presenta similitudes florísticas con la Antártida Marítima, entre las que destaca la presencia de comunidades de tundra dominadas por *Usnea* (Redón & Quilhot 1977; Etayo & Sancho 2008). Estos líquenes, han sido recientemente señalados como potenciales bioindicadores del calentamiento global en regiones polares y alpinas (Ellis & Yahr 2011). Comparaciones entre los ecosistemas más australes de Sudamérica y los de la Antártida marítima proporcionarían antecedentes adecuados de cara a evaluar el alcance del cambio climático en el Hemisferio Sur (Turner *et al.* 2005; Sancho *et al.* 2011). En la Introducción General se expone en más detalle el interés de realizar estudios de vegetación sobre gradientes latitudinales naturales en el contexto del cambio global (Howard-Williams *et al.* 2010). El presente trabajo se desarrolla en Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile) e Isla Livingston (Islas Shetland del Sur). El estado de conservación de sus ecosistemas, prácticamente inalterados, las avala como laboratorios naturales para investigaciones sobre la vegetación y sus relaciones con el ambiente (Sancho *et al.* 1999, Rozzi *et al.* 2008).

Es razonable esperar que el potencial adaptativo de los organismos antárticos ante cambios ambientales se relacione con la variabilidad de sus poblaciones (Ellstrand & Ellam 1993). En el caso de los líquenes, dicho potencial atañe a los dos componentes de la simbiosis, micobionte y fotobionte. Diversos estudios de la estructura genética de las poblaciones de ambos biontes en paralelo, realizados sobre distintas simbiosis liquénicas, sugieren que factores ecológicos, especialmente el clima, podrían tener un impacto en la selección del fotobionte (Beck *et al.* 2002, Yahr *et al.* 2006, Mugia *et al.* 2008, Fernández-Mendoza *et al.* 2011, Peksa & Škaloud 2011, Castillo & Beck 2012, Werth & Sork 2010, 2014). A raíz de estos resultados, la idea de que un liquen pueda adaptarse a distintas condiciones ambientales mediante asociaciones con distintos fotobiontes, empieza a consolidarse. El proceso de transmisión horizontal de fotobiontes o “algal switching” fue descrito y evidenciado por Piercey-Normore & DePriest 2001. Las autoras sugieren que líquenes de la misma especie en distintos ambientes podrían adquirir, mediante dicho mecanismo, el fotobionte más adecuado en cada caso. En este contexto se plantea el presente estudio molecular sobre el grado de selectividad entre biontes para distintas poblaciones de *Usnea* encontradas a ambos lados del pasaje de Drake.

Los patrones de selectividad y especificidad dentro de la familia Parmeliaceae son variables (Leavitt *et al.* 2015). El término selectividad (en inglés, “selectivity”) hace referencia al grado

de fidelidad en las relaciones de uno de los biontes en la simbiosis líquénica hacia el otro. Es un atributo que caracteriza la interacción desde la perspectiva de los distintos biontes y se puede expresar mediante cinco niveles: muy alta, alta, moderada, baja, y muy baja selectividad. En concreto, los niveles de selectividad alta o muy alta se aplicarían en el caso de que el organismo estudiado se asocie exclusivamente con una especie del otro bionte; el nivel de selectividad moderado se aplicaría en el caso de que el organismo estudiado se asocie con un género en particular del otro bionte; y por último, los niveles de selectividad baja y muy baja harían referencia a asociaciones a nivel de orden y superiores (Beck *et al.* 2002).

El término especificidad (en inglés, “specificity”) depende del anterior, pero sin embargo hace referencia al conjunto de la simbiosis, siendo una relación muy específica aquella en que ambos biontes son altamente selectivos hacia el otro. En el caso de una relación muy específica, la comparación de las filogenias de los distintos biontes reflejaría eventos de especiación coordinados, propios de un proceso coevolutivo (Piercey-Normore 2006). Por otro lado, niveles bajos de especificidad y asimetrías en el flujo genético entre simbiontes conducirían a estructuras genéticas diferenciadas, que a su vez se han relacionado con la transmisión horizontal del fotobionte (Werth & Sork 2010).

La correcta identificación de ambos biontes es un prerequisite imprescindible para determinar el grado de selectividad entre biontes y para detectar o descartar posibles relaciones de especificidad. Las principales características morfológicas, anatómicas, químicas y ecológicas en las que se basa la taxonomía del grupo *Neuropogon* del género *Usnea* aparecen recogidas en la monografía de Walker (1985). Más recientemente, la filogenia del micobionte ha sido revisada desde el punto de vista molecular (Wirtz *et al.* 2006), y también la circunscripción de algunas de las especies de líquenes neuropogonoides del género *Usnea* (Seymour *et al.* 2007, Wirtz *et al.* 2008, 2012, Lumbsch & Wirtz 2011). Como consecuencia se ha propuesto la sinonimización de algunas especies, y se han descrito otras nuevas. A pesar de los muchos avances, todavía no existe un compendio actualizado en base a dichos estudios que sirva de guía para la identificación de las distintas especies del grupo, entre otras razones porque todavía queda pendiente el estudio en profundidad de las poblaciones de Australasia. Por otro lado, se sabe muy poco sobre la identidad de los fotobiontes presentes en el grupo *Neuropogon* a nivel de especie (Cao *et al.* 2015). Los líquenes del género *Usnea*, al igual que el resto de líquenes de la familia Parmeliaceae, se asocian con algas verdes del género *Trebouxia* (Ahmadjian 1958), cuya diversidad estaba siendo subestimada (Leavitt *et al.* 2015). Sin embargo, el desarrollo actual de filogenias en base a datos moleculares está permitiendo el

reconocimiento de cada vez más especies y linajes de estos fotobiontes, y el análisis de la diversidad de patrones de selectividad y especificidad.

En este contexto, la finalidad del presente trabajo fue llevar a cabo una aproximación a la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *Usnea* estudiadas, mediante el estudio molecular de ambos componentes de la simbiosis. Para ello se plantearon los siguientes objetivos concretos: (1) Determinar desde el punto de vista molecular la identidad de los micobiontes de las distintas especies de liquen encontradas en las dos áreas de estudio; (2) Determinar la identidad desde el punto de vista molecular de los linajes de fotobionte presentes en las distintas localidades y especies; (3) Analizar los niveles de selectividad y especificidad entre biontes; y (4) Determinar la diversidad molecular de ambos biontes en las distintas especies y localidades.

## 2. Material y Métodos

### 2.1 Descripción breve del área de estudio

En la Metodología General se incluye una versión más detallada sobre el clima, la geología y la vegetación de ambas localidades, así como algunos mapas e imágenes de las mismas.

La Isla Livingston (62°39'S, 60°23'W) forma parte de las Islas Shetland del Sur y se encuentra al noroeste de la Península Antártica. La zona investigada en el presente trabajo es la Bahía Sur, un área libre de hielo formada por un complejo de playas elevadas y morrenas glaciales, acantilados y roquedos, que va desde el nivel del mar hasta los 273m de altitud. La temperatura media anual (maT) es de -1.3 °C y la precipitación media anual (maP) de unos 500 mm (Bañón 2001 & Bañón *et al.* 2013). La isla pertenece a la provincia biogeográfica de las Islas Antárticas Atlánticas, y su bioclima se ha descrito como Polar Hiperoceánico (Rivas-Martínez 2011). La vegetación consiste en un mosaico de comunidades de tundra generalmente dominadas por criptógamas saxícolas, entre las que destacan los líquenes del grupo *Neuropogon* del género *Usnea*.

La Isla Navarino (55°10'S 67°03'W, Chile) pertenece al archipiélago de Tierra del Fuego, la región más austral de Sudamérica y por tanto la más cercana a la Antártida. La zona investigada se ubica en el Cerro Bandera, y comprende altitudes entre los 600 y los 850 m s.n.m. Los datos de la estación meteorológica más cercana (a 0 m s.n.m.) son 6.0 °C de maT, y

448 mm de maP, (Luebert & Pliscoff 2006). Ha de tenerse en cuenta que la temperatura disminuye en torno a 0.6 °K por cada 100 m de elevación, y que la precipitación también varía con el aumento de la altitud, siendo con frecuencia en forma de nieve en regiones alpinas (Körner 1999). La isla pertenece a la provincia biogeográfica Austromagallánica Boreal, y su bioclima se ha descrito como Boreal Hiperoceánico (Rivas-Martínez *et al.* 2011). La vegetación está formada predominantemente por bosques caducifolios de hayas australes (género *Nothofagus*). Por encima del límite forestal se desarrolla la tundra altoandina, caracterizada por plantas de crecimiento almohadillado y comunidades de criptógamas saxícolas que muestran una clara afinidad con la región de la Antártida Marítima.

## **2.2 Diseño de muestreo y experimental**

En Isla Navarino el muestreo se llevó a cabo durante febrero de 2011. Se definió un área de 2km<sup>2</sup> en una elevación conocida como Cerro Bandera (S 54° 58'; W 67° 37'). La altitud del área seleccionada osciló entre 650 y 800 m s.n.m. El muestreo se estructuró en torno a 12 puntos predefinidos que abarcaron la mayoría de bandas altitudinales y sustratos existentes en el área. En esta localidad se recolectaron muestras de 213 especímenes a partes iguales entre los puntos de muestreo con fines de identificación y análisis moleculares.

En Isla Livingston el muestreo se llevó a cabo en febrero de 2012. Se definió un área de 2km<sup>2</sup> en los alrededores de la BAEJCI (S° 62 39'; W 60° 23'). La altitud del área seleccionada osciló entre 0 to 275 m s.n.m. El muestreo se estructuró en torno a 18 puntos predefinidos que abarcaron la mayoría de bandas altitudinales y sustratos existentes en el área. En esta localidad se recolectaron muestras de 203 especímenes a partes iguales entre los puntos de muestreo con fines de identificación y análisis moleculares.

En ambos casos, inicialmente se muestrearon talos completos, representativos de las distintas morfologías observadas. Posteriormente, para el resto de especímenes, tan solo se muestrearon fragmentos del talo, como por ejemplo una lacinia. Todas las muestras fueron transportadas en seco hasta Madrid y almacenadas a -20°C hasta el momento de realizar los análisis moleculares en el Senckenberg Research Institute (Frankfurt). Antes de los análisis se separó un fragmento de 1 cm aproximadamente de cada muestra, y una vez comprobado que no tuviera infecciones fúngicas, se procedió a realizar la extracción.

El total del DNA genómico del micobionte y el fotobionte se extrajeron a la vez a partir del tejido haploide, bien con DNAeasy™ Pland Mini Kit y siguiendo el protocolo del fabricante (QUIAGEN) o con el protocolo CCDB Glass Fiber Plate para extracción múltiple de DNA basada en membranas (Ivanova *et al.* 2006). El marcador ITS se amplificó por separado para uno de los biontes mediante el kit de amplificación illustra™ puReTaq Ready-To-Go PCR Beads. Los primers o cebadores y las condiciones de ciclo de la PCR fueron establecidos según Fernández-Mendoza *et al.* 2011. Los productos de PCR se diluyeron en proporción 2/80 en agua destilada, y el DNA amplificado se secuenció según Domaschke *et al.* 2012. Las secuencias obtenidas se editaron en Geneious 7.1.4 (Biomatters Ltd) y se alinearon mediante el algoritmo MUSCLE (Edgar RC, 2004).

## 2.3 Análisis de datos

Para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre individuos se calcularon redes de haplotipos con el programa TCS1.21 (Clement *et al.* 2000) en base a las secuencias obtenidas a partir de los especímenes detallados en el **ANEXO B**. En el caso del micobionte, para la elaboración de la red de haplotipos, se utilizó el criterio de probabilidad 95% de parsimonia y las delecciones se trataron como “missing values” (Templeton *et al.* 1992). En el caso del fotobionte, el criterio de conectividad se redujo del 95 al 90 %, de tal modo que el haplotipo A19 se pudiera conectar con el resto. Para poder identificar cada linaje de micobionte y de fotobionte, se comprobó una secuencia de cada haplotipo en la base de datos Genbank, mediante la herramienta de búsqueda de alineamientos locales BLAST. Posteriormente, una selección de secuencias de *Usnea* publicadas por Wirtz *et al.* (2012) y una selección de secuencias de *Trebouxia* publicadas por Ruprecht *et al.* (2012), especificadas en la **Tabla B1 del ANEXO B**, se incluyeron en la red de haplotipos correspondiente. Finalmente se utilizó el programa Adobe® Illustrator CS6 para representar adecuadamente las redes de haplotipos. Para poder ser representados en las distintas figuras y tablas, cada haplotipo se nombró con la combinación de una letra y dos dígitos, correspondiendo la A (de “algal”) a los haplotipos de fotobionte y la F (de “fungal”) a los de micobionte.

Para el análisis de los patrones de selectividad entre biontes se elaboró una tabla de correspondencias entre haplotipos con las 203 muestras del set de datos “pareado”, es decir, para aquellas muestras en las que se pudieron amplificar ambos biontes (**Tabla 1**). Seguidamente se analizaron las frecuencias de los distintos haplotipos mediante el test de Chi-

cuadrado ( $\chi^2$ ), para comprobar si su distribución era estadísticamente significativa (**Tabla 2**). Para el análisis de diversidad se realizaron análisis de polimorfismo con DNASP 5.10.01 (Librado & Rozas 2009), a partir de los cuales se obtuvieron la riqueza o número de haplotipos distintos por grupo y el Índice de diversidad de haplotipos (Hd), su desviación estándar (SD) y varianza, y el número total de sitios analizados (es decir el número de bases o longitud de la secuencia) y el número de sitios polimórficos encontrados. Los grupos de muestras (agrupadas por especies y localidades) se compararon mediante el “t-test para índices de diversidad” de Zar (1999), basado en el Hd, en su SD, en el número de muestras y en el número de haplotipos en cada grupo de muestras.

### 3. Resultados

A partir de las 416 muestras disponibles inicialmente se obtuvieron 365 extracciones de DNA. De esas 365 extracciones se pudieron amplificar y secuenciar 313 secuencias de ITS de micobionte y 255 secuencias de fotobionte, a partir de los especímenes que se detallan en las **Tablas B2 y B3 del ANEXO B** respectivamente. Estas secuencias constituyeron el set de datos completo u “original” en base al cual se elaboraron sendas redes de haplotipos, del micobionte y del fotobionte. Solo 203 de las extracciones amplificaron para el ITS del hongo y el alga simultáneamente, las cuales constituyeron un set de datos reducido o “pareado” de cada uno de los biontes, a partir del cual se calcularon los índices de diversidad y las correspondencias entre biontes.

#### 3.1 Red de haplotipos del micobionte

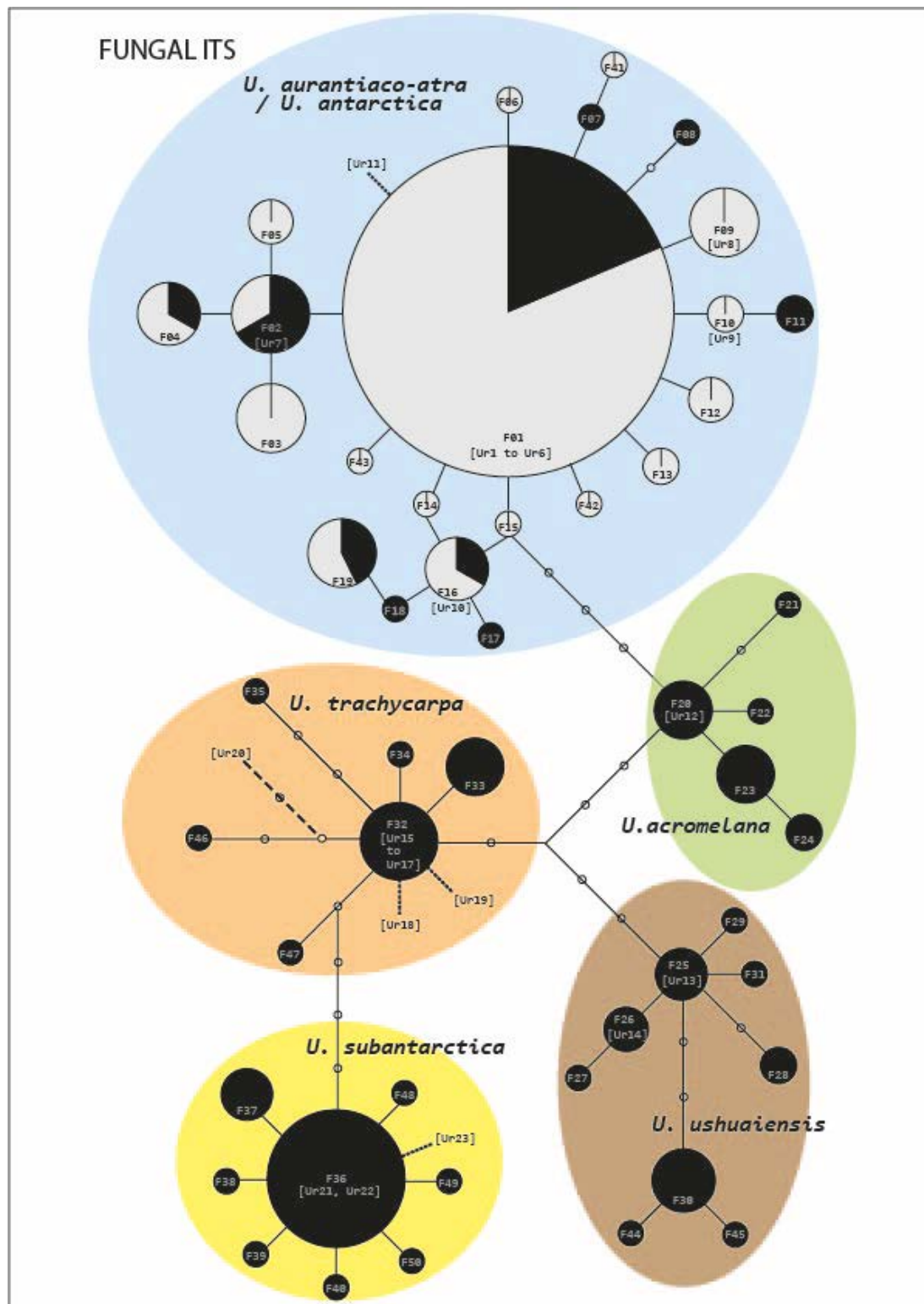
El alineamiento representado en la red de haplotipos del marcador ITS del hongo (**Figura 1**) incluyó 313 secuencias de 468 bases de longitud. Se detectaron 59 sitios polimórficos que resultaron en 49 haplotipos diferentes (49 según DNASP, 50 según TCS). Los haplotipos se agruparon en cinco clados que coincidieron con cinco especies filogenéticas de *Usnea* según las circunscripciones de Wirtz *et al.* (2012): *U. acromelana*, el par *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, *U. subantarctica*, *U. trachycarpa*, y *U. ushuaiensis*. De los cinco linajes de liquen, el único encontrado en las dos áreas de estudio (Antártida Marítima y Tierra del Fuego) fue el par de especies *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*. El resto aparecieron exclusivamente en el área de estudio más septentrional (Tierra del Fuego). Para el linaje común a ambas localidades (*U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*) se observó que los haplotipos de hongo más frecuentes

estaban presentes en ambas áreas de estudio. Se observaron algunos haplotipos exclusivos para cada una de las áreas, pero siempre con muy pocos cambios con respecto a los que eran comunes a ambas localidades. Por tanto, no se observó una estructura geográfica clara para los haplotipos de ITS del micobionte de *U. aurantiaco-atra*.

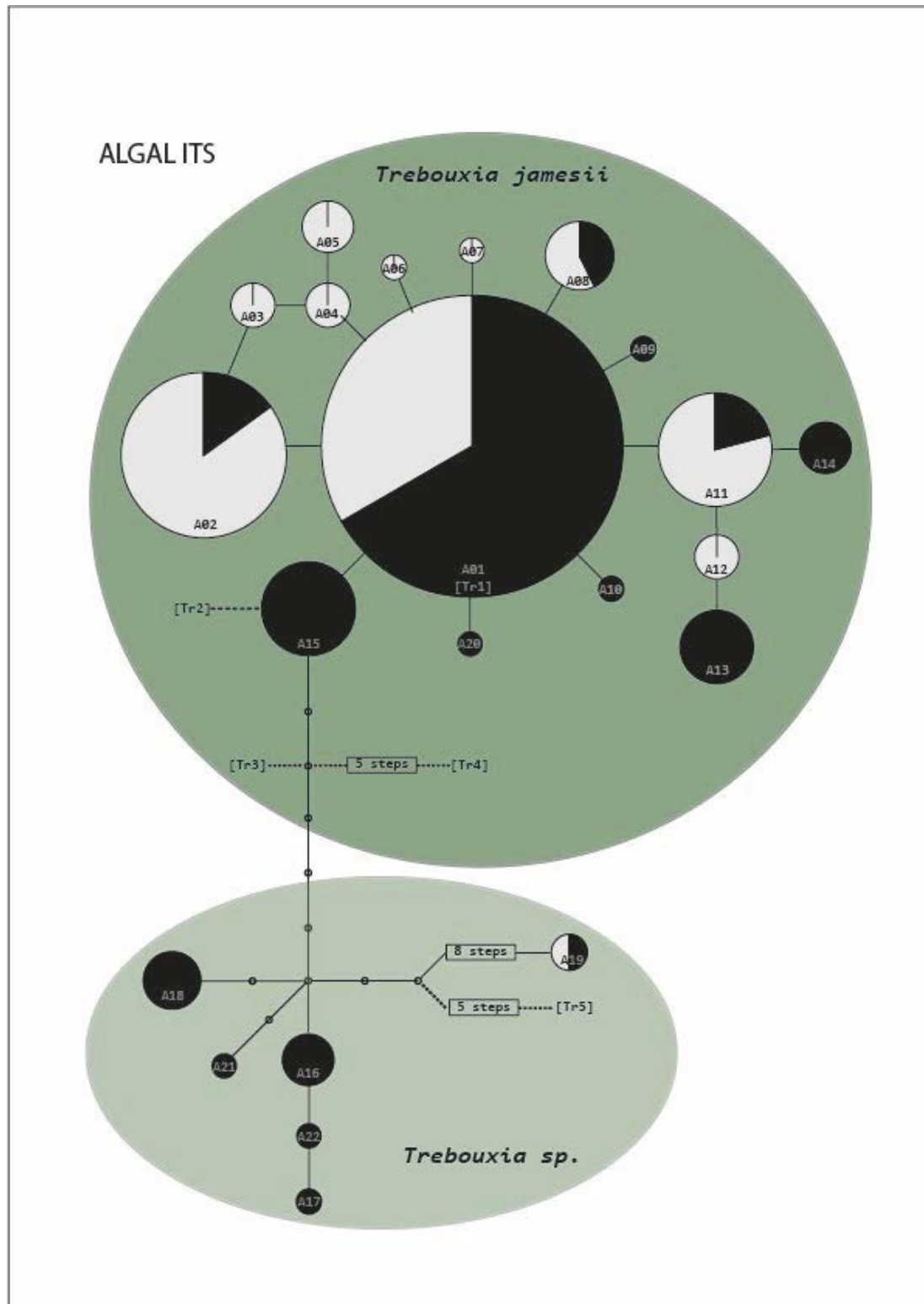
### 3.2 Red de haplotipos del fotobionte

El alineamiento representado en la red de haplotipos del marcador ITS del alga (**Figura 2**) incluyó 255 secuencias y 569 bases de longitud. Se detectaron 35 sitios polimórficos que resultaron en 22 haplotipos diferentes (tanto para DNASP, como para TCS). Los haplotipos se agruparon en dos clados principales que coincidieron con la especie *Trebouxia jamesii* (en el caso del clado principal), y con un linaje de *Trebouxia* descrito y nombrado por Ruprecht *et al.* (2012) como URa11. Con respecto a la distribución geográfica de los distintos haplotipos se observó que los haplotipos de alga más frecuentes estaban presentes en las dos áreas de estudio. Hubo algunos haplotipos aparentemente exclusivos de una de las áreas, pero siempre estrechamente relacionados a los haplotipos comunes. En otras palabras, tampoco se observó una estructura geográfica clara para los haplotipos de ITS algal en el área de estudio.





**Figura 1.** Red de haplotipos del micobionte basada en secuencias del marcador ITS. Distintos haplotipos se representaron como círculos conectados por un número de pasos, que representan el número de “cambios de base” entre ellos. El tamaño de los círculos es proporcional al número de muestras que mostraron ese haplotipo. El origen de la muestra se representó en los círculos mediante proporciones de color, siendo negro para Navarino y gris para muestras de Livingston. Los distintos haplotipos se etiquetaron con un carácter alfanumérico que incluía una F al principio. Muestras de la misma especie / linaje de hongo se destacaron mediante una sombra elíptica por detrás, etiquetada con el nombre de la especie. Las secuencias de referencia para *Usnea* de Genbank se incluyeron en las redes mediante corchetes con la abreviatura [Ur] de “*Usnea* reference”.



**Figura 2.** Red de haplotipos del fotobionte basada en secuencias del marcador ITS. Distintos haplotipos se representaron como círculos conectados por un número de pasos, que representan el número de “cambios de base” entre ellos. El tamaño de los círculos es proporcional al número de muestras que mostraron ese haplotipo. El origen de la muestra se representó en los círculos mediante proporciones de color, siendo negro para Navarino y gris para muestras de Livingston. Los distintos haplotipos se etiquetaron con un carácter alfanumérico que incluía una A al principio. Muestras de la misma especie /linaje de alga se destacaron mediante una sombra elíptica por detrás, etiquetada con el nombre de la especie. Las secuencias de referencia para *Usnea* de Genbank se incluyeron en las redes mediante corchetes la abreviatura [Tr], de “*Trebouxia* reference”.

### 3.3 Patrones de selectividad y especificidad

Las combinaciones de haplotipos observadas para las 203 muestras en las que se secuenciaron ambos biontes, y su frecuencia de aparición, se pueden observar en la (**Tabla 1**). El micobionte *U. aurantiaco-atra* mostró una selectividad moderada, dado que se asoció con diversos linajes (15) y más de una especie de *Trebouxia* (*T.jamesii* y *T.spp "URa11"*), en ambas localidades. El micobionte *U. trachycarpa* también mostró una selectividad moderada. El resto de micobiontes mostraron una selectividad alta hacia la especie *T. jamesii*, asociándose con diversos linajes pero de la misma especie. Sin embargo, los niveles de especificidad resultaron ser bajos o nulos, ya que todos los haplotipos de alga más abundantes eran compartidos por dos o más especies de liquen (A01, A02, A11, A15, A13, A14).

Cuando se analizó el número de observaciones de los distintos haplotipos de alga (**Tabla 2**) para el conjunto de muestras en que se secuenciaron ambos biontes (N = 255), así como para los subconjuntos de cada una de las localidades, Livingston (N = 113) y Navarino (N = 142), se obtuvieron resultados significativos mediante el test de Chi- Cuadrado ( $p=0.001$ ,  $gl = 21$ ) en todos los casos, por lo que se descartó que la distribución de frecuencias fuera debida al azar. Cuando se realizó el mismo análisis por especies, la distribución de haplotipos del alga de nuevo resultó ser estadísticamente significativa con un nivel de  $p=0.001$  en el par *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, en *U. subantarctica* y en *U. trachycarpa*; y con un nivel de  $p=0.01$  en *U. ushuaiensis*. En todos los casos el haplotipo A01 era el haplotipo de alga más frecuentemente encontrado (**Tabla 1**). También se observaron algunos haplotipos poco frecuentes de fotobionte, puntualmente asociados con los distintos micobiontes, pero sin mostrar un patrón claro.

### 3.4 Índices de diversidad

Se calculó, para las distintas localidades y especies, diversos parámetros representativos de la variabilidad genética de las poblaciones estudiadas, entre ellos la riqueza de haplotipos (o número de haplotipos distintos en cada grupo) y el índice de diversidad de haplotipos ( $H_d$ , basado en el análisis de polimorfismo del marcador ITS). En primer lugar, se compararon todas las muestras del grupo Neuropogon en su conjunto, es decir, independientemente de la especie. Para ello se utilizó el set de datos "original", es decir, el set de datos más completo disponible para cada uno de los biontes (**Tabla 3**).

**Tabla 1.** Tabla de correspondencias entre biontes generada a partir del set de datos reducido, es decir a partir de aquellos especímenes en que se secuenciaron ambos alga y hongo. Las distintas filas representan distintos haplotipos de micobionte, indicados mediante un código alfanumérico que comienza por “F”; y las distintas columnas representan distintos haplotipos de fotobionte, indicados mediante un código alfanumérico que comienza por “A”.

		Especies y haplotipos de fotobionte																			Σ
		Trebouxia jamesii																Trebouxia spp. cepa URa11			
Especies y haplotipos de micobionte		A01	A 02	A 11	A 15	A 08	A 05	A 13	A 03	A 14	A 04	A 12	A 06	A 07	A 09	A 10	A 16	A 18	A 19	A 17	
Usnea aurantiaco-atra	F01	37	25	11	-	5	3	-	2	1	1	2	1	1	-	-	1	1	2	-	93
	F03	2	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	F02	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
	F09	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
	F19	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	4
	F16	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
	F04	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
	F05	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
	F11	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2
	F12	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	F06	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F07	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F10	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F13	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F14	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F15	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F17	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
F18	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
Usnea subantarctica	F36	18	-	-	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
	F37	2	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
	F38	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F39	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F40	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Usnea acromelana	F20	3	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	F23	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	5
	F24	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	F21	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F22	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Usnea ushuaiensis	F30	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
	F25	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	F26	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	F27	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F28	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F29	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F31	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Usnea trachycarpa	F32	7	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	9
	F33	1	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	5
	F34	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	F35	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Σ		110	32	18	9	5	4	4	3	3	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	203

**Tabla 2.** Número de observaciones (Obs.) y frecuencias (Freq.) de cada uno de los 22 haplotipos de alga (Algal HT) observados en el set de datos completo (N=255) y para el subconjunto de muestras de Livingston (N = 113) y Navarino (N = 142). Los asteriscos (\*) señalan aquellos set de datos que mostraron una distribución de frecuencias significativa para Chi-cuadrado.

Algal HT	Set de Datos					
	Completo		Livingston		Navarino	
	Obs.	Frec. (%)	Obs.	Frec. (%)	Obs.	Frec. (%)
A01	132	51,8	44	38,9	88	62,0
A02	40	15,7	34	30,1	6	4,2
A03	3	1,2	3	2,7	0	0,0
A04	3	1,2	3	2,7	0	0,0
A05	4	1,6	4	3,5	0	0,0
A06	1	0,4	1	0,9	0	0,0
A07	1	0,4	1	0,9	0	0,0
A08	7	2,7	4	3,5	3	2,1
A09	1	0,4	0	0,0	1	0,7
A10	1	0,4	0	0,0	1	0,7
A11	19	7,5	15	13,3	4	2,8
A12	3	1,2	3	2,7	0	0,0
A13	8	3,1	0	0,0	8	5,6
A14	4	1,6	0	0,0	4	2,8
A15	13	5,1	0	0,0	13	9,2
A16	4	1,6	0	0,0	4	2,8
A17	1	0,4	0	0,0	1	0,7
A18	5	2,0	0	0,0	5	3,5
A19	2	0,8	1	0,9	1	0,7
A20	1	0,4	0	0,0	1	0,7
A21	1	0,4	0	0,0	1	0,7
A22	1	0,4	0	0,0	1	0,7
Test Chi <sup>2</sup> (p = 0.001, g.l = 21)	(*)		(*)		(*)	

En el análisis comparativo entre localidades del micobionte se obtuvo una riqueza de haplotipos mayor en Navarino (37 haplotipos) que en Livingston (17 haplotipos); así como un índice diversidad significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) en Navarino ( $H_d = 0.900$ ) que en Livingston ( $H_d = 0.447$ ), como era de esperar para un mayor número de especies de liquen. En el análisis del fotobionte, de nuevo la riqueza de haplotipos era mayor en Navarino (16 haplotipos) que en Livingston (11 haplotipos). Sin embargo, el índice de diversidad resultó ser significativamente mayor ( $p < 0.01$ ) en Livingston ( $H_d = 0.742$ ) que en Navarino ( $H_d = 0.602$ ). Cuando se procedió a analizar la especie *U. aurantiaco-atra*, la única presente en ambas localidades, se observó una mayor riqueza de haplotipos de micobionte en Livingston (17 haplotipos) que en Navarino (10 haplotipos), de nuevo en base al set de datos completo. Sin embargo, el índice  $H_d$  no resultó significativamente distinto. Para el estudio del fotobionte por especies, se calcularon los mismos parámetros de variabilidad genética, en este caso en base al set de datos “pareado” o reducido (**Tabla 4**). Cabe destacar la especie *U. ushuaiensis*, que presentó los mayores valores de diversidad de haplotipos del micobionte ( $H_d = 0.91$ ) y los valores más bajos de diversidad del fotobionte ( $H_d = 0.18$ ).

**Tabla 3.** Análisis de polimorfismo basado en el set de datos original (= completo) e índices de diversidad para *Usnea* en su conjunto y para *U. aurantiaco-atra*. El set de datos original incluyó todas las secuencias obtenidas para cada uno de los biontes.

Set de datos	Simbionte	Localidades consideradas	Nº de secuencias	Nº de sitios	Nº de polimorfismos	Nº de haplotipos	Diversidad de haplotipos ( $H_d$ )
<i>Usnea</i> (todas las especies)	Micobionte	Ambas	313	468	59	49	0.730
		Livingston	174	460	18	17	0.447
		Navarino	139	462	50	37	0.900
<i>Usnea</i> (todas las especies)	Fotobionte	Ambas	255	569	35	22	0.699
		Livingston	113	569	23	11	0.742
		Navarino	142	569	31	16	0.602
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Micobionte	Livingston	174	460	18	17	0.447
		Navarino	49	460	11	10	0.612

**Tabla 4.** Análisis de polimorfismo basado en el set de datos pareado (= reducido) e índices de diversidad para las distintas especies estudiadas. El set de datos pareado incluyó solamente aquellas muestras en las que se secuenciaron con éxito ambos biontes.

Simbionte	Localidad	Especies consideradas	Nº de secuencias	Nº de sitios	Nº de polimorfismos	Nº de haplotipos	Diversidad de haplotipos (Hd)
Micobionte	Livingston	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	102	460	13	13	0,428
	Navarino	<i>Usnea acromelana</i>	14	459	5	5	0,769
		<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	30	460	11	10	0,710
		<i>Usnea subantarctica</i>	30	461	4	5	0,405
		<i>Usnea trachycarpa</i>	16	459	5	4	0,617
		<i>Usnea ushuaiensis</i>	11	460	9	7	0,909
Fotobionte	Livingston	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	102	569	23	11	0,741
	Navarino	<i>Usnea acromelana</i>	14	569	3	4	0,495
		<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	30	569	24	8	0,637
		<i>Usnea subantarctica</i>	30	569	5	4	0,444
		<i>Usnea trachycarpa</i>	16	569	12	6	0,617
		<i>Usnea ushuaiensis</i>	11	569	3	2	0,182

#### 4. Discusión

Cada vez es más evidente la necesidad de incluir herramientas moleculares a la hora de detectar e identificar distintas especies de líquenes (Lumbsch & Leavitt 2011). En el presente trabajo se identificaron cinco linajes moleculares de micobionte. Uno de ellos, *Usnea aurantiaco-atra*, estaba presente en las dos localidades estudiadas, Livingston y Navarino. El resto, *Usnea acromelana*, *Usnea subantarctica*, *Usnea trachycarpa* y *Usnea ushuaiensis*, tan solo estaban presentes en Isla Navarino. Cuando los resultados de la identificación molecular del micobionte se contrastaron con los estudios morfológicos previamente realizados sobre el mismo material, hubo que afrontar algunos de los conflictos de delimitación de especies descritos para el grupo por Wirtz *et al.* (2012). Por ejemplo, los linajes de *U. subantarctica* y *U. trachycarpa* resultaron morfológicamente indistinguibles, como ya había sido señalado por dicha autora. Por otro lado, en el caso de la especie *U. ushuaiensis*, los caracteres morfológicos iniciales conducían a una identificación errónea de la misma como *U. perpusilla*, una especie morfológicamente similar y filogenéticamente muy próxima. Finalmente, cabe señalar la presencia del par de especies *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, cuya dualidad fenotípica se discute en el **Capítulo 2** la presente tesis doctoral. Sin embargo, dado que desde el punto de

vista molecular son indistinguibles, en el presente capítulo se consideran ambas especies como una sola unidad taxonómica. Para más detalles sobre las relaciones entre los resultados de la identificación molecular y los caracteres morfológicos del material estudiado consultar la **Tabla A1 del ANEXO A**.

En el caso del fotobionte se identificaron dos especies moleculares de alga: una mayoritaria, que se identificó como *Trebouxia jamesii*, y una menos frecuente, provisionalmente denominada como cepa URa11 de *Trebouxia sp.* (Ruprecht *et al.* 2014), y representada como Tr5 en la red de haplotipos del fotobionte (**Figura 2**). Estudios recientes para localidades cercanas a Livingston también identificaron *T. jamesii* (Cao *et al.* 2015) como fotobionte de *U. aurantiaco-atra*. Ambas especies se observaron en ambas localidades, así como los haplotipos de alga más frecuentemente observados (A01, A02, A11, A08). Teniendo en cuenta la distancia entre localidades (unos 1000 km) estas similitudes contrastan con los patrones de variación regionales observados en otros grupos a escalas mucho menores (Yahr *et al.* 2006, Castillo & Beck 2012). El grado de selectividad del micobionte sobre el fotobionte resultó ser moderado en la mayoría de especies estudiadas (*U. aurantiaco-atra*, *U. acromelana*, *U. trachycarpa*), que se asociaron con las dos especies de *Trebouxia* anteriormente descritas. Por otro lado, el grado de selectividad del fotobionte también resultó ser moderado, y tanto *T. jamesii* como *T. sp* “URa11” se asociaron con distintas especies de micobionte. En la Antártida, los niveles de selectividad observados en otros otros grupos de líquenes (como los lecideoides, cianolíquenes, y umbilicados) mediante estudios que llegaban a abarcar miles de kilómetros, fueron generalmente moderados o bajos (Romeike *et al.* 2002, Wirtz *et al.* 2003, Ruprecht *et al.* 2012), y salvo algunas excepciones observadas en potenciales refugios glaciales de la Antártida Continental (Pérez-Ortega *et al.* 2011, Jones *et al.* 2013), se encontraron relaciones poco específicas entre biontes. Niveles poco elevados de selectividad y especificidad se interpretaron, en dichos trabajos, como un mecanismo ventajoso a la hora de colonizar, establecerse y adaptarse en ambientes extremos como son los polares y alpinos (Romeike *et al.* 2002, Wirtz *et al.* 2003, Ruprecht *et al.* 2012).

Se observó también que el haplotipo A01 de *T. jamesii* fue el haplotipo de alga más frecuentemente encontrado en ambas localidades, así como en todas las especies de liquen estudiadas. Cuando la secuencia de fotobionte A01 se contrastó con la base de datos GenBank se observó que era idéntica a la secuencia JN204768.1 obtenida por Ruprecht *et al.* (2012) en una muestra de liquen lecideoide de origen alpino (identificada como Tr1 en la **Figura 2** y en la **Tabla B1 del ANEXO B**). La asociación preferente con algas de linajes similares o idénticos en



localidades de clima frío pero geográficamente muy distantes, se ha interpretado como la existencia de fotobiontes adaptados a este tipo de ambientes (Fernández-Mendoza *et al.* 2011, Jones *et al.* 2013). Distintas especies de *Trebouxia* mostraron distintas respuestas en experimentos de tolerancia a la congelación (Hájek *et al.* 2012), lo que respaldaría la hipótesis de la existencia de fotobiontes “climáticamente adaptados”. En cualquier caso se descarta que los distintos patrones de distribución observados en los líquenes estudiados se deban a asociaciones con distintas algas locales, y se sugiere que sean más bien debidos a problemas de establecimiento o desarrollo del micobionte, como se comenta a continuación.

El grupo *Neuropogon* tiene su centro de distribución en regiones polares y templadas frías del hemisferio Sur, pero algunas especies también aparecen puntualmente en regiones frías del hemisferio norte. En base a esta distribución se considera que este grupo evolucionó en la Antártida, y que de ahí colonizaron Sudamérica y el Ártico (Walker 1985). Estudios moleculares recientes apoyan dicha hipótesis de migración sur-norte para algunas especies de líquenes de distribución bipolar como *Usnea lambii* (Wirtz *et al.* 2008) y *Caloplaca soropelta* (Søchting & Castello 2012). Sin embargo, en el presente trabajo la diversidad del micobionte resultó claramente mayor en Tierra del Fuego que en la Antártida, tanto en número de especies como en número de haplotipos de la especie común a ambas localidades. Otros líquenes de los géneros *Cetraria* (Domaschke *et al.* 2012) y *Peltigera* (Zúñiga *et al.* 2015) mostraron también una diversidad mayor de haplotipos de micobionte en Tierra de Fuego que en la Antártida, lo que se ha interpretado como un efecto fundador de la colonización de localidades antárticas mediante dispersión a larga distancia desde localidades más septentrionales (Domaschke *et al.* 2012). Por otro lado, la diversidad del fotobionte resultó similar para *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, o incluso ligeramente superior para el grupo *Neuropogon* en su conjunto en la localidad antártica según el índice de diversidad calculado. A este respecto, las mismas autoras observaron o bien niveles similares de diversidad del fotobionte a ambos lados del Drake (Zúñiga *et al.* 2015), o bien niveles menores de diversidad en la Antártida pero posiblemente atribuibles a un sesgo de muestreo (Domaschke *et al.* 2012). La existencia de flujo genético transoceánico se ha sugerido para algunas especies de líquenes de distintos géneros como *Flavocetraria* (Geml *et al.* 2010), *Cladonia* (Myllys *et al.* 2003), y *Porpidia* (Buschbom 2007). En el caso de las dos masas continentales aquí estudiadas, las posibilidades de dispersión de propágulos vegetales son relativamente elevadas gracias a las conexiones a larga distancia vía aérea (Marshall 1996). En este contexto sería posible que las especies restringidas a Tierra del Fuego (*Usnea acromelana*, *Usnea subantarctica*, *Usnea trachycarpa* y *Usnea ushuaiensis*), también estén llegando a la Antártida pero no sean capaces de competir con la especie ya bien

establecida (*U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*). Sin embargo, estudios que incluyan más localidades serán necesarios para poder realizar inferencias a nivel biogeográfico.



## Capítulo II

### Estudio distribucional y ecofisiológico sobre el par de especies de líquenes antárticos *U. antarctica* / *U. aurantiaco-atra*

Publicado como:

**Laguna-Defior, C.**, Pintado, A., Green, T. A., Blanquer, J. M., & Sancho, L. G. (2015). Distributional and ecophysiological study on the Antarctic lichens species pair *Usnea antarctica*/*Usnea aurantiaco-atra*. *Polar Biology*, 1-13.

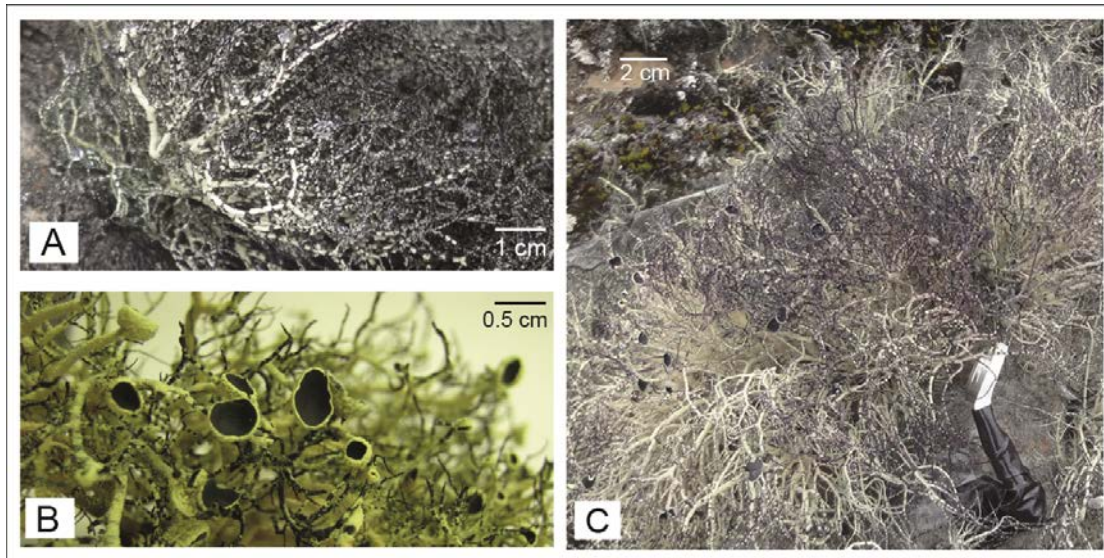


## 1. Introducción

Comprender las relaciones entre el clima, la diversidad biológica y el funcionamiento de los ecosistemas en la Antártida, es un paso necesario para poder evaluar los posibles efectos de los cambios pronosticados para la zona (IPCC 2014). En este sentido, los líquenes son un grupo de interés considerable, por su papel destacado en los ecosistemas terrestres del continente austral (Øvstedal & Smith 2001), y porque a lo largo del mismo responden visiblemente a los gradientes ambientales (Green *et al.* 2011), un aspecto esencial de cara a utilizarlos como bioindicadores. Los líquenes muestran tres tendencias principales de cambio con la latitud en la Antártida, que son: el gradiente de tasas de crecimiento; el de cobertura; y el de diversidad. Las tasas de crecimiento, que difieren en dos órdenes de magnitud a lo largo de la Antártida (Sancho *et al.* 2007a), son posiblemente uno de los mejores indicadores encontrados hasta la fecha para la detección del cambio climático en el área. Por otro lado, la diversidad de especies de líquenes se correlaciona positivamente con la temperatura media desde la Antártida marítima hasta los 72 °S (Peat *et al.* 2007; Casanovas *et al.* 2013; Green *et al.* 2011). Finalmente, la cobertura disminuye también con el aumento de latitud, pasando de ser prácticamente completa en el norte de la Península Antártica a formaciones de vegetación dispersa en el sur. Los líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* dominan gran parte de las comunidades de vegetación en la Antártida marítima y en las regiones alpinas subantárticas (Øvstedal & Smith 2001; Walker 1985). En el presente trabajo se investigaron dos especies de este grupo, usando una combinación de estudios locales ecofisiológicos, y comparando los patrones geográficos en las escalas local y continental.

Las dos especies de *Usnea* aquí estudiadas, *Usnea aurantiaco-atra* (Jacq.) Bory y *Usnea antarctica* Du Rietz se han considerado durante mucho tiempo como un par de especies, que se diferencian principalmente por su sistema de dispersión (**Figuras 1A y 1B**); *U. aurantiaco-atra* es fértil (con apotecios) y no-sorediada, mientras que *U. antarctica* es estéril pero sorediada (Walker 1985; Seymour *et al.* 2007). Más recientemente se ha mostrado mediante estudios filogenéticos, que las dos especies no se pueden distinguir desde el punto de vista molecular (Wirtz *et al.* 2012), por lo que su estatus taxonómico está siendo cuestionado. Sin embargo, el posible cambio nomenclatural se pospuso hasta que se complete el estudio de delimitación de todas las especies del grupo Neuropogon; por lo que en esta publicación la diferenciación entre especies se mantiene. Esta decisión también se basó en otros hechos prácticos, como que las dos “especies” pueden reconocerse fácilmente una de otra; o que son

ampliamente conocidas bajo dichos nombres y es como aparecen citadas en la literatura disponible hasta la fecha. Sin embargo, si se confirmara que son sinónimos, entonces la situación se interpretaría más bien como plasticidad fenotípica, un fenómeno observado en otros líquenes como *Ramalina capitata* (Pintado *et al.* 1997).



**Figura 1.** Primer plano de talos de los líquenes (A) *U. antarctica* y (B) *U. aurantiaco-atra*; y (C) imagen e un sensor iButton instalado entre talos de ambas especies (Isla Livingston, Islas Shetland del Sur, Febrero 2012).

El concepto de par de especies es comúnmente utilizado en liquenología (Mattson & Lumbsch 1989), pero las ventajas y mecanismos que explican su existencia todavía son controvertidos. Se consideran como tales aquellas especies que sólo se distinguen morfológicamente en base a su estrategia de dispersión, y que generalmente muestran diferencias en su ecología y distribución. Algunos estudios han sugerido que las condiciones ambientales pueden determinar la prevalencia de una u otra estrategia reproductiva (Hestmark 1991; Marshall 1996). En el caso que nos ocupa, *U. aurantiaco-atra* esta confinada en el oeste de la Península Antártica, el Arco de Scotia, las islas Falkland y la región subantártica del sur de Sudamérica, mientras que *U. antarctica* es una especie circumpolar Antártica que se puede encontrar en la Península Antártica, en las islas subantárticas y en la Antártida continental. Sin embargo, al igual que en el caso de otros pares de especies, se puede observar que frecuentemente coexisten en un mismo territorio. En términos de sus preferencias ecológicas, *U. aurantiaco-atra* se considera una especie montana y de zonas venteadas o expuestas, mientras que *U. antarctica* muestra un comportamiento más ubicuo y se considera relativamente nitrotolerante (Walker 1984; Øvstedal & Smith 2001). La literatura sobre estas dos especies en términos de fotosíntesis y de estimaciones de productividad es razonablemente extensa

(Harrison & Rothery 1988; Kappen 1985, 1993; Kappen & Redón 1987; Kappen *et al.* 1987; Schroeter *et al.* 1995). Las citadas investigaciones se concentraron en la Antártida marítima (noroeste de la Península Antártica e islas adyacentes) y en islas subantárticas, y en la mayoría de los casos, solo se realizaron sobre una de las dos especies mencionadas, por lo que comparaciones entre ambas especies en base a especímenes procedentes del mismo sitio, son escasas. Isla Livingston (Islas Shetland del Sur, Antártida marítima), es un lugar que destaca por sus altos niveles de diversidad de líquenes (Sancho *et al.* 1999; Søbchting *et al.* 2004), entre los que se encuentran *U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica*. En el presente trabajo se presenta una comparación detallada entre ambas desde el punto de vista ecofisiológico. Nuestra hipótesis principal era que las especies individuales se diferenciarían en su distribución local en relación a las condiciones microclimáticas, así como en su comportamiento fotosintético (bajo condiciones controladas de laboratorio) frente a variaciones de temperatura y de contenido hídrico; y que esas diferencias se alinearían con ambas distribuciones, local y Antártica. Diferencias consistentes entre *U. antarctica* y *U. aurantiaco-atra*, han de permitirnos alcanzar una mejor comprensión de los factores clave que determinan su distribución.

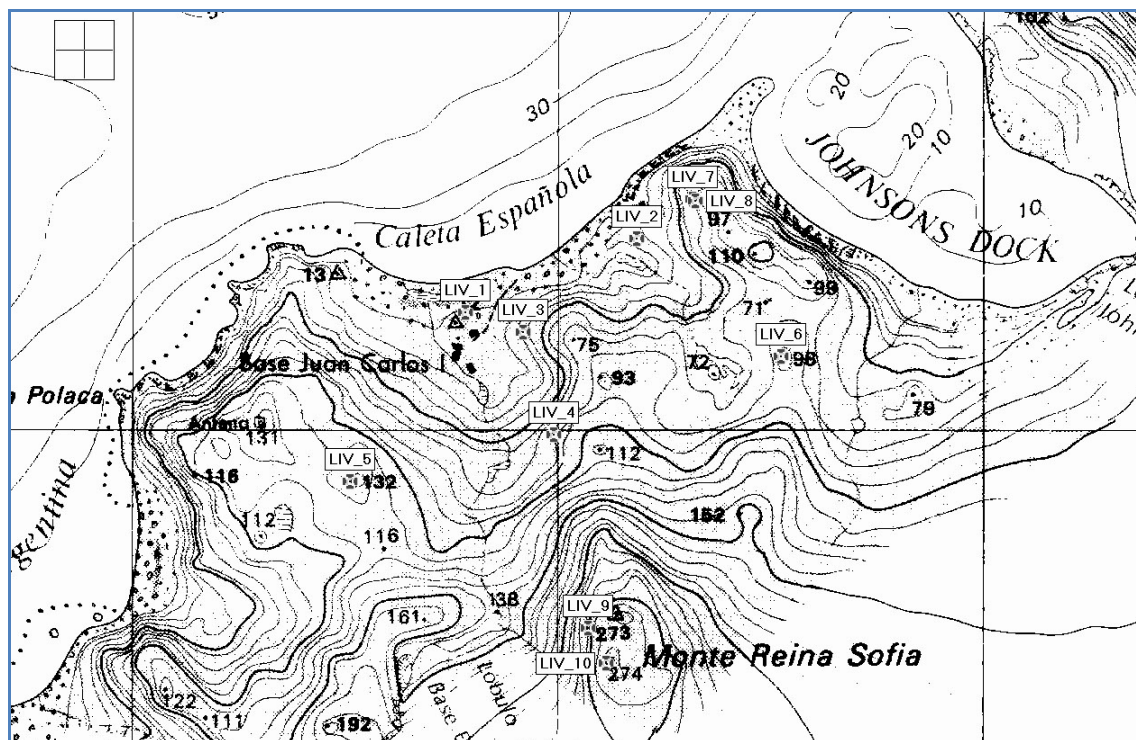
## 2. Material y métodos

### 2.1 Descripción breve del área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en isla Livingston (60°40'S, 60°23'W, Islas Shetland del Sur), donde se encuentran algunas de las formaciones de vegetación terrestre más extensas de la Antártida marítima, con 187 especies de liquen, 50 especies de briofitos, y las dos únicas especies de plantas vasculares que se cuentan entre la flora antártica (Sancho *et al.* 1999; Søbchting *et al.* 2004). Estudios previos describieron como las comunidades de líquenes responden a gradientes ambientales en el área (Pintado *et al.* 2001). El sitio investigado se encontraba en la Bahía Sur de Isla Livingston, cerca de la Base Antártica Española Juan Carlos I (BAE JCI, **Figura 2**). Esta área se describe en profundidad en Sancho *et al.* (1999) y en la **Metodología General**. Consiste en un área libre de hielo de unos 3 km<sup>2</sup> que se extiende desde la costa hasta la cima del Monte Reina Sofía, a 274 m s.n.m., y que está protegida de los vientos fuertes y fríos del sur, pero expuesta a los vientos relativamente suaves y húmedos del norte y del noroeste. La temperatura media del verano (diciembre – febrero, para el periodo 1988-1993) está entorno a los 3 °C, y la variación térmica diaria es muy baja. En verano, la precipitación media es entorno a los 200 mm y la humedad relativa del aire con frecuencia sobrepasa el 90 % (Sancho *et al.* 1999). Datos de la estación cercana en la Isla Rey Jorge



(62°12'S, 58°58'W, Islas Shetland del Sur) muestran una temperatura media anual (MAAT) de -1.6 °C a altitudes cercanas al nivel del mar, y una precipitación anual de entorno a los 500 mm equivalentes de lluvia (Ramos *et al.* 2009).



**Figura 2.** Localización de los iButtons en el área de estudio. Bahía Sur (Isla Livingston).

## 2.2 Distribución general del par de especies

La Antártida se divide en dos regiones principales en base a clima y vegetación: la región de la Antártida marítima y la continental (Smith 1984). *U. antarctica* aparece en ambas regiones, pero *U. aurantiaco-atra* se restringe a la Antártida marítima solo (Walker 1983). Con el objetivo de delimitar su rango latitudinal, se comprobaron las referencias de herbario de las dos especies. Los datos de distribución se descargaron de British Antarctic Survey's Antarctic Plant Database ([http://www.antarctica.ac.uk/bas\\_research/data/collections/plant.php](http://www.antarctica.ac.uk/bas_research/data/collections/plant.php)) el 31 de mayo de 2013). También se obtuvieron datos de ocurrencia a partir de la base de datos Global Biodiversity Information Facility (GBIF 2013, <http://www.gbif.org>). Dichas bases contienen, entre otros datos, información de localidades con presencia de estas especies, entre otros datos.

### 2.3 Estudios de cobertura

Para estudiar la distribución de las dos especies de *Usnea* presentes en Isla Livingston, se definió un área de 2 km<sup>2</sup> dentro del área libre de hielo, en las proximidades de la BAE JCI. LA presencia de acantilados y formaciones de hielo permanente, supuso dificultades de acceso que, junto con la distribución parcheada de la vegetación en las áreas libres de hielo, limitaban el diseño de muestreo. Finalmente se seleccionaron 18 puntos (**Tabla 1**) entre varias formaciones geográficas presentes en el área (Monte Reina Sofía, Pico Radio, Cerro Punto Geodésico, Cerro Johnson) en base a criterios de accesibilidad y existencia de las comunidades objeto de estudio. Con el objetivo de abarcar toda la variabilidad posible de las comunidades de tundra estudiadas, se eligieron una serie de parcelas distribuidas de forma homogénea entre las cuatro bandas altitudinales que eran accesibles: 0-50 m (N = 4), 50-100 m (N = 6), 100-150 m (N = 4), y 250-300 m (N = 4). Entre 150 m y 250 m las comunidades objeto de estudio estaban ausentes o inaccesibles debido al carácter escarpado del terreno; por lo que no se eligió ninguna parcela en este área. Las parcelas también se repartieron homogéneamente entre sitios verticales (generalmente en bloques de piedra o paredes) y horizontales (en pedregales o suelos rocosos). Para cada sitio se registró la ubicación (latitud, longitud, y altitud) con un GPS, y los grados del desnivel del sustrato con un inclinómetro, y es, junto con otros parámetros, se muestra para cada sitio en la **Tabla 1**. En cada parcela, la cobertura (%) de las dos especies de *Usnea* se determinó mediante un quadrat de 50x100cm, que a su vez estaba subdividido en una cuadrícula menor que facilitaba las estimaciones. También se recolectaron datos de otros grupos destacados de vegetación (plantas superiores, otros macrolíquenes y briófitos) con el objeto de detectar cambios en la comunidad que correlacionaran con la distribución de las principales especies. La mayoría de líquenes se identificaron a nivel de especies. Los briófitos se consideraron un grupo funcional con la excepción de *Andreaea* (elemento distintivo de las comunidades estudiadas). Los líquenes crustáceos y otros microlíquenes no se consideraron en este estudio.

**Tabla 1.** Descripción de las parcelas. La distancia a la costa se midió como la distancia más corta entre cada sitio y la línea de costa en el mapa (m). La distancia vertical entre la ubicación del quadrat y el suelo (cm) se determinó considerando cero para los quadrat al nivel del suelo. Tamaño de roca en relación al tamaño de quadrat (%), 100 % significa que la roca ocupa un área igual o mayor a la del quadrat. La pendiente se proporciona en grados (Norte = 0°, y Oeste = 90°).

Sitio	Altitud (m)	Pendiente (°)	Distancia a la costa (m)	Distancia al suelo (cm)	Tamaño de roca (%)	Orientación (°)
1	22	90	124	90	>100	0
2	27	10	104	0	10	-45
3	41	20	141	0	>100	-45
4	44	90	141	50	>100	0
5	77	70	133	70	>100	-90
6	77	2	133	0	>100	-90
7	84	30	347	0	>100	-45
8	87	90	347	25	>100	-45
9	94	11	322	0	1	-45
10	94	60	322	50	>100	-45
11	111	10	328	0	1	-90
12	114	10	356	0	1	-90
13	127	0	442	0	10	-135
14	127	60	442	60	>100	-135
15	253	0	860	0	25	-45
16	253	50	860	80	>100	-45
17	275	5	953	0	10	-45
18	275	40	953	3	>100	-135

## 2.4 Estudios de microclima

Se instalaron 10 sensores DS1923-Hygrochron (Ibutton®, Maxim) en el área de estudio (**Figura 2**). Se distribuyeron dentro del mismo área utilizado para los estudios de cobertura, y fueron instalados a altitudes que oscilaron de los 8 a los 277 m, y repartidos homogéneamente entre sitios horizontales y verticales. Los sensores se sincronizaron y se programaron para registrar temperatura (T, °C) y humedad relativa (RH, %) cada tres horas. Los sensores se colocaron lo más cerca posible o incluso en contacto de talos de *Usnea*, mediante el uso de un soporte que se atornilló sobre las rocas en las que los líquenes crecían (**Fig. 1C**). El periodo registrado (y determinado por la disponibilidad de memoria de los sensores utilizados) fue del 02/04/2012 al 16/02/2013. Uno de los Ibutton (#5) falló y no se pudo descargar. A partir de los datos de

temperatura y humedad relativa se calculó el déficit de presión de vapor (VPD), que es una aproximación del poder desecante del aire. Para ello, en primer lugar se calculó la presión de vapor de saturación del aire (SPV) según Murray (1967) mediante la siguiente ecuación:  $SPV \text{ (Pascals)} = 610.7 \cdot 10^{7.5T/(237.3+T)}$ ; y seguidamente se calculó el VPD a partir de T y RH y de acuerdo a la ecuación  $VPD \text{ (Pascals)} = (1 - (RH/100)) \cdot SVP$ .

## 2.5 Caracterización ecofisiológica de *Usnea*

Se recolectaron diez talos intactos de cada una de las dos especies estudiadas, en lugares donde ambas especies crecían sobre pequeñas piedras sueltas, que fueron las localidades 2 (62°39.660'S; 60°22.836'W) y 9 (62°39.804'S; 60°22.419'W) de la **Tabla1**. El peso de las muestras oscilaba entre los 1.0 - 5.0 g en las muestras de *U. antarctica* y entre los 1.4 - 3.5 g en las de *U. aurantiaco-atra*. Las muestras se secaron a temperatura ambiente (en torno a 15 °C en el laboratorio de campo) y una vez secas se transportaron al laboratorio y se almacenaron congeladas a -21 °C, después de haberse retirado cualquier resto de substrato o de otras especies. El almacenamiento en seco a temperaturas en torno a -20°C es un procedimiento habitual en estudios ecofisiológicos sobre líquenes, y en diversas especies se ha comprobado que no daña su metabolismo ni su estructura (Larson 1989). En el presente trabajo se descartaron los posibles efectos del almacenamiento midiendo dos talos en fresco de cada una de las especies (es decir, talos que fueron transportados en seco hasta el laboratorio y medidos inmediatamente), que se utilizaron de referencia. Antes de comenzar las medidas de intercambio gaseoso, se utilizó un procedimiento de reactivación de líquenes, especificado en la **Metodología General**. En primer lugar, el material próximo a ser medido se dejaba descongelar en una cámara de crecimiento durante 24h en una cámara de crecimiento (Fitotron® SGC 120 Plant Growth Chamber) a 5°C y 70% RH. Los talos descongelados se dejaron entonces por tres días más en la cámara de crecimiento con periodos alternados de 12 horas de luz (10 °C, 70 % RH); y 12 horas de oscuridad (5 °C y 70% RH). Durante este periodo de tres días, las muestras se pulverizaban hasta empapares una vez al día, con un sistema de riego programable y bajo condiciones de luz (photosynthetic photon flux density, PPFD) de 100  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . El buen estado del aparato fotosintético se comprobó antes y después de los experimentos de intercambio gaseoso, mediante medidas de fluorescencia de la clorofila del fotosistema PSII. Se observaron valores de Yield estables y propios de muestras en buen estado.

Los experimentos de intercambio gaseosos se llevaron a cabo bajo condiciones controladas de PPFD y temperatura mediante un sistema de medidas CMS400 (Walz, Alemania) cuyo funcionamiento de detalla en la **Metodología General**. Para los experimentos se utilizaron talos completos, incluyendo las partes de fijación al substrato. Antes de cada experimento, las muestras se hidrataron primero por pulverización (3 pulverizaciones a lo largo de 30 minutos) y luego por inmersión en agua durante cinco minutos, para que alcanzaran el máximo contenido hídrico (WCmax). El contenido hídrico de las muestras (WC, en % del peso seco) se calculó a partir del peso de la muestra hidratada (ww) y el peso seco (dw, medido en estufa a 100 °C / 24 h después de los experimentos) mediante la siguiente fórmula  $WC = [(WW - DW) / DW] * 100$ .

El contenido hídrico óptimo (WCopt) para la fotosíntesis se determinó mediante procedimiento estándar de intercambio gaseoso, midiendo los valores de fotosíntesis neta (NP) sobre talos inicialmente saturados de agua que se dejaban secar en condiciones de 10 °C y 800  $\mu\text{mol-photon s}^{-1}$  de PPFD, para que pasaran por distintos contenidos hídricos. Seguidamente, para cada muestra se determinó la respuesta de intercambio gaseoso frente a la luz y la temperatura, medida en el óptimo de hidratación mediante el uso de una secuencia de siete niveles de PPFD (0, 50, 100, 200, 400, 800 y 1200  $\mu\text{mol-photon s}^{-1}$ ), aplicada a cinco temperaturas que abarcaban un rango de cerca de treinta grados (-4, 3, 10, 17 y 24°C). En cada una de las temperaturas además se midió la respiración máxima en el WCmax (DRmax) y durante cada curva de luz en el WCopt (DROpt).

## 2.6 Análisis de datos

Los datos obtenidos de cobertura de especies y de variables microclimáticas se analizaron en relación a las características de altitud y pendiente del terreno de cada sitio con Statgraphics®Centurión-XII y con SigmaPlot® 10.0. Los valores de cobertura se analizaron mediante ANOVA de una vía para cada una de las especies frente a los intervalos altitudinales previamente definidos. La cobertura también se analizó en relación a las categorías definidas de pendiente del substrato (horizontal / vertical) mediante Student's t-test, para los sitios donde las especies coexistían. Los datos microclimáticos (T y RH) se promediaron para un periodo de cerca de un año (320 días debido a las limitaciones de almacenamiento de los iButtons). Los promedios obtenidos para cada uno de los sensores se analizaron en relación a la altitud y a la pendiente. El efecto de la altitud sobre el microclima se analizó por medio de

regresiones lineales, El efecto de la pendiente se analizó para cada variable microclimática mediante Student's t-test. La NP máxima ( $A_{max}$ ), los puntos de compensación y saturación de luz de la fotosíntesis ( $PPFD_{comp}$ ,  $PPFD_{sat}$ ) se obtuvieron ajustando, para cada una de las temperaturas estudiadas, la función de Smith a la curva respuesta frente a la luz (Smith 1938; Green *et al.* 1997). La fotosíntesis bruta máxima ( $GP_{max}$ ) se calculó como la suma de  $A_{max}$  y  $DR_{max}$ . La fotosíntesis bruta en el  $WC_{opt}$  ( $GP_{opt}$ ) se calculó como la suma de  $A_{max}$  y  $DR_{opt}$ . El óptimo de temperatura se obtuvo ajustando una regresión cúbica a la respuesta de intercambio gaseoso sobre las curvas de temperatura medidas a  $800 \mu\text{mol}\cdot\text{photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Para comparar el comportamiento fotosintético de las dos especies, se utilizaron Student's t-test, o el test no-paramétrico correspondiente, Mann-Whitney Rank Sum test, aplicados sobre los datos obtenidos a cada una de las temperaturas estudiadas.

### 3. Resultados

#### 3.1 Distribución local de *Usnea* (Isla Livingston)

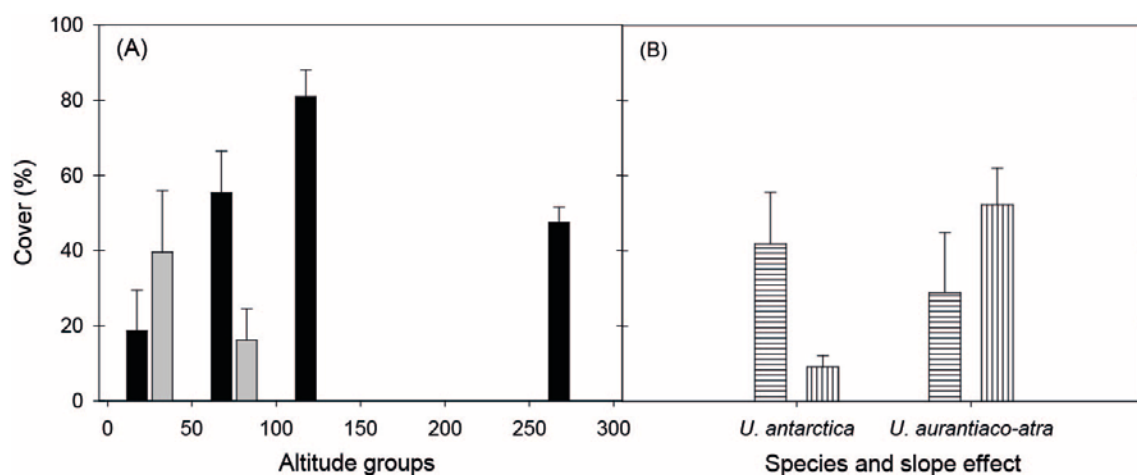
La cobertura de *U. aurantiaco-atra* variaba entre los intervalos altitudinales estudiados (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks;  $p = 0.035$ ,  $H = 8.623$ ,  $gl = 3$ ), con diferencias significativas entre los grupos 0 - 50 y 100 - 150 m (Bonferroni test; *Diferencia* = -11.0; *Limite* =  $\pm 9.9$ ). La máxima de *U. aurantiaco-atra* fue de  $80.1 \% \pm 7$  (Media  $\pm$  Error Típico), y se observó entre los 100 y los 150 m (**Figura 3, panel izquierdo**). La cobertura de *U. antarctica* también cambió significativamente entre los intervalos altitudinales estudiados (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks;  $p = 0.002$ ,  $H = 14.615$ ,  $gl = 3$ ), siendo la diferencias significativas entre el grupo 0 - 50 y 100 - 150 m (Bonferroni test; *Diferencia* = -10.75; *Limite* =  $\pm 9.9$ ); y entre el grupo 0 - 50 de nuevo y 250 - 300 m (Bonferroni test; *Diferencia* = -10.75; *Limite* =  $\pm 9.9$ ). La especie no se encontró por encima de los 100 m s.n.m.

*U. antarctica* mostró su mayor cobertura en el rango altitudinal inferior y, cuando estaba presente, mostró mayores coberturas en sitios horizontales respecto a verticales ( $p = 0.048$ ,  $t = -2.330$ ,  $gl = 8$ ). En contraste, *U. aurantiaco-atra* no cambió significativamente en relación a la pendiente ( $p = 0.246$ ,  $t = 1.253$ ,  $gl = 8$ ). Otras especies también mostraron cambios de cobertura en relación a la altitud (**Tabla 2**). Las plantas superiores, por ejemplo, se restringían a las altitudes inferiores, mientras que el líquen endémico *Himantormia lugubris* solo aparecía

en las altitudes superiores. El musgo *Andreaea* sp. resultó ser indiferente a la altitud, con coberturas similares en todos los sitios.

**Tabla 2.** Cobertura (%) media de las categorías de vegetación estudiadas, macrolíquenes, briófitos, y plantas vasculares, agrupadas en base a los rangos altitudinales estudiados (tamaño de quadrat 50 x 50 cm, N = 18).

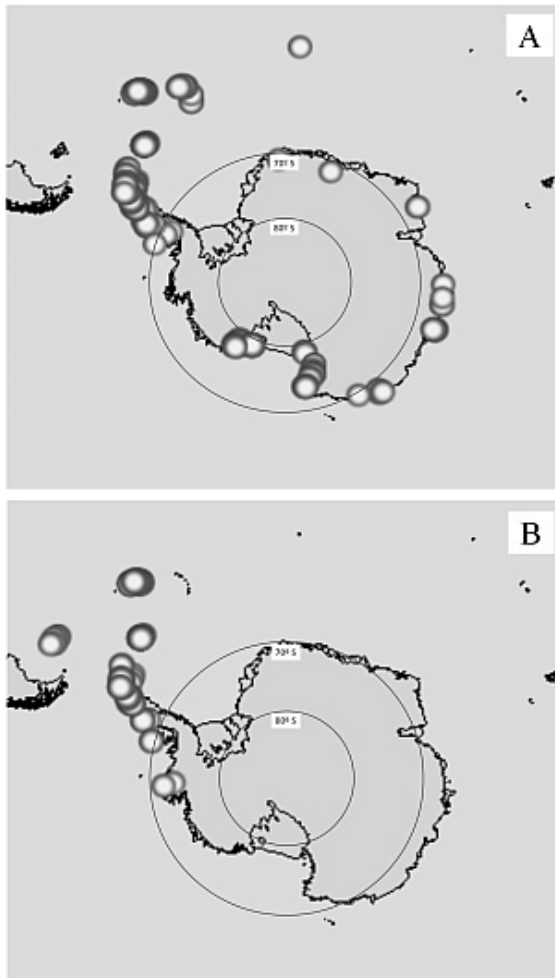
	0-50 m	50-100 m	100-150 m	250-300 m
<b>Macrolíquenes</b>				
<i>U. aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	18.6	55.3	80.9	47.5
<i>U. antarctica</i> Du Rietz	39.6	16.2	0.0	0.0
<i>Parmelia saxatilis</i> (L.) Ach.	1.3	0.0	0.0	0.0
<i>Stereocaulon alpinum</i> Laur.	<1.0	<1.0	<1.0	0.0
<i>Cladonia</i> sp.	<1.0	0.0	0.0	0.0
<i>Sphaerophorus globosus</i> (Huds.) Vain.	<1.0	0.0	0.0	0.0
<i>Himantormia lugubris</i> (Hue) Lamb	0.0	0.0	0.0	15.4
<i>Pseudephebe pubescens</i> (L.) Choisy	0.0	0.0	0.0	<1.0
<b>Briófitos</b>				
<i>Andreaea</i> sp.	4.7	5.8	4.4	5.1
Otros musgos	5.7	1.8	<1.0	2.2
<b>Plantas Vasculares</b>				
<i>Deschampsia antarctica</i> Desv.	2.5	0.0	0.0	0.0
<b>Otros (suelo desnudo o crustaceos)</b>	25.3	20.8	13.4	29.5



**Figura 3.** Cambios de cobertura (%) de *Usnea aurantiaco-atra* (barras negras) y *Usnea antarctica* (barras grises); (A) en respuesta a la altitud y (B) en respuesta a la pendiente del sustrato definida como horizontal (diseño a rayas, N = 5) y vertical (diseño a puntos, N = 5) Barras verticales indican Error Típico.

### 3.2 Distribución general

En la **Figura 4** se representan los rangos de distribución de las dos especies basados en las bases de datos del BAS Antarctic Herbarium y del GBIF. La especie *U. antarctica* mostró una distribución general más amplia, llegando hasta los 78 °S en la Antártida continental. La especie *U. aurantiaco-atra* mostró un rango de distribución más reducida, quedando restringida a la región de la Antártida marítima sin sobrepasar los 67 °S. Se estimó la temperatura media anual de los límites latitudinales en base a Green *et al.* (2011), y la precipitación en base a Green *et al.* (2007). A 69 °S, el límite de distribución austral de *U. aurantiaco-atra*, la MAAT es de -9.2 °C; a 78°S, el límite de distribución austral de *U. antarctica*, la MAAT era de -19.9 °C. Las precipitaciones eran de 729 y 150 mm equivalentes de lluvia, respectivamente.

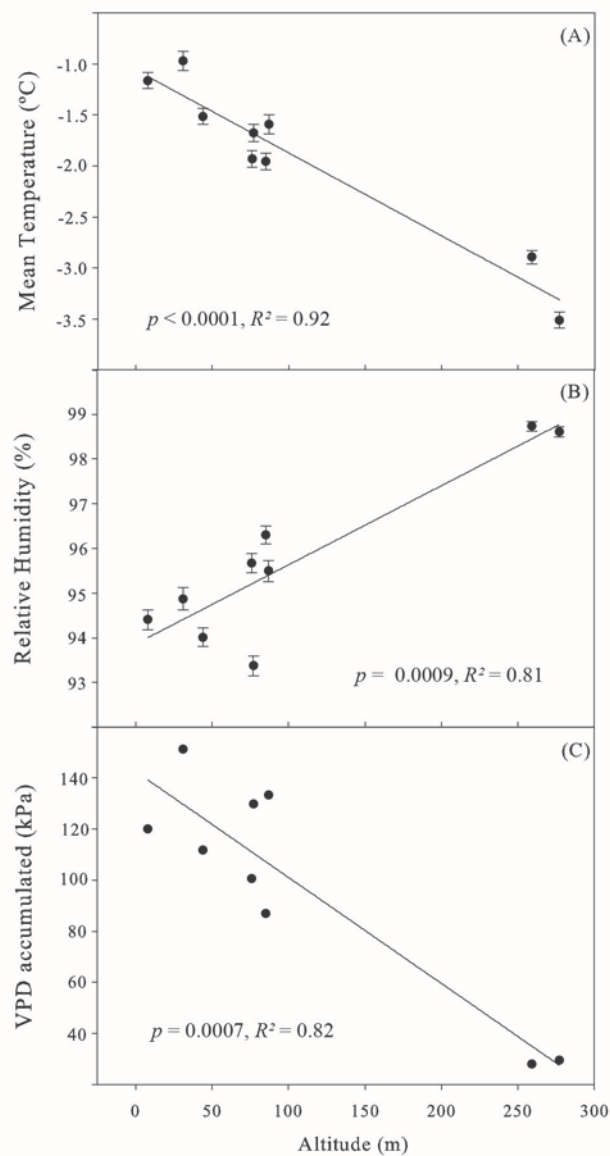


**Figura 4.** Distribución conocida de (a) *Usnea aurantiaco-atra* y (B) *Usnea antarctica* a lo largo de la Antártida. Datos de distribución obtenidos a partir de la base de datos de la British Antarctic Survey's Antarctic Plant Database el 31 de mayo de 2014; ([http://www.antarctica.ac.uk/bas\\_research/data/collections/plant.php](http://www.antarctica.ac.uk/bas_research/data/collections/plant.php)).



### 3.3 Microclima

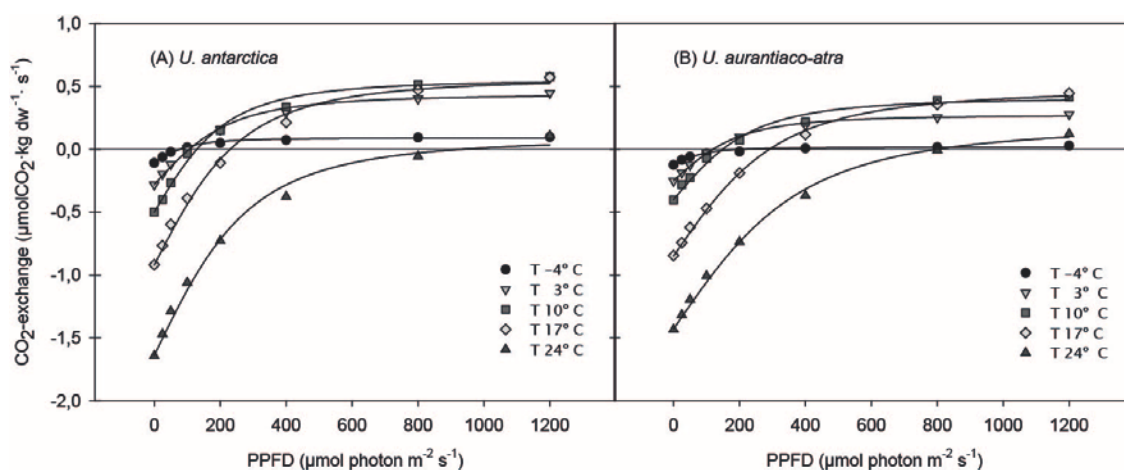
T media y VPD acumulado disminuyeron significativamente con la altitud, mientras que la RH media aumentó significativamente (detalles estadísticos en Figura 5). Los sitios a altitudes resultaron 1.5 °C más fríos, y más húmedos en base una disminución del parámetro representativo del déficit hídrico (VPD acumulado) desde los 30 kPa hasta los 100 kPa en zonas inferiores. La influencia de la pendiente se analizó solo en los sitios inferiores, donde ambas especies coexistían. La RH (% , Media  $\pm$  Error Típico) era significativamente mayor ( $t = -3.854$ ;  $gl = 5$ ,  $p = 0.012$ ) en sitios horizontales ( $95.5 \pm 0.3$ ) que en sitios verticales ( $93.9 \pm 0.3$ ). T media y VPD acumulado no se correlacionaron significativamente con la pendiente.



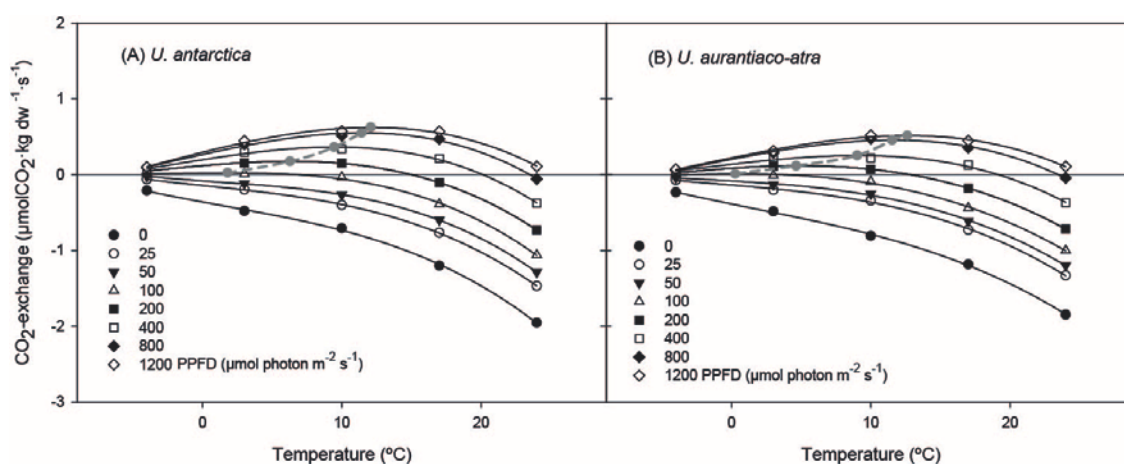
**Figura 5.** Temperatura media (A, °C), humedad relativa media (B, %), y VPD acumulado (C, kPa) en relación a la altitud, para el periodo entre el 02/04/2012 y el 16/02/2013. Las barras verticales indican el error típico del promedio calculado en cada sitio ( $N = 2560$ ). Las regresiones lineales ajustadas a las medias ( $N = 9$ ) eran todas altamente significativas.

### 3.4 Respuesta fotosintética y contenidos hídricos

Ambas especies tuvieron respuestas casi idénticas de la fotosíntesis frente a la temperatura y luz. Las curvas respuesta de NP frente a la luz mostraron la forma de saturación típica (**Figura 6**), con PPFD requerido para saturar la NP siendo muy similar para ambas especies a todas las temperaturas (**Tabla 3**). La respiración en oscuridad (DR<sub>opt</sub>, DR<sub>max</sub>) y la fotosíntesis bruta (GP) también eran muy similares entre especies a todas las temperaturas (**Tabla 3**). La curva respuesta a la temperatura mostro la típica forma con óptimos casi idénticos para ambas especies a los distintos PPFD estudiados, y valores inferiores a las temperaturas más cálidas o más frías (**Figura 7**). Se observó la interacción típica entre PPFD y temperatura, ya que las dos especies mostraron óptimos de temperatura mayores a mayores niveles de luz y , de nuevo, las especies no se diferenciaron de forma significativa en sus valores de NP<sub>max</sub> ni en los óptimos de temperatura a ningún nivel de luz (**Tabla 4**). Los calores de WC<sub>opt</sub> y WC<sub>max</sub>, que superaron el test de normalidad pero no superaron el de homocedasticidad, se compararon entre especies mediante Mann-Whitney Rank Sum Test. Los valores de WC<sub>opt</sub>, que fueron de  $70.7 \pm 17.4$  % para *U. antarctica* y  $74.4 \pm 7.6$  % para *U. aurantiaco-atra* (Median  $\pm$  IQR), no mostraron diferencias significativas ( $p = 0.645$ ) entre especies. El único parámetro que mostró diferencias significativas entre especies fue WC<sub>max</sub>, WC<sub>max</sub> ( $p = 0.029$ ), con valores de  $149.2 \pm 20.6$  % para *U. antarctica*, y de  $167.8.1 \pm 3.9$  % para *U. aurantiaco-atra* (Mediana  $\pm$  IQR).



**Figura 6.** Curvas respuesta de intercambio gaseoso frente a la luz a distintas temperaturas para las dos especies, (A) *Usnea antarctica* y (B) *Usnea aurantiaco-atra* medidas bajo condiciones controladas de laboratorio (N = 8).



**Figura 7.** Curvas de intercambio gaseoso en respuesta a la temperatura, a distintos PPFD entre 0 y 1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para las dos especies estudiadas, (A) *Usnea antarctica* y (B) *Usnea aurantiaco-atra*, medidas bajo condiciones controladas de laboratorio (N = 8). La línea gris discontinua señala el cambio en los óptimos de temperatura a distintas luces.

**Tabla 3.** Valores promedio ( $\pm$  Desviación típica) de respiración en oscuridad (DR), fotosíntesis bruta (GP), y máxima fotosíntesis neta (Amax) obtenidos para *Usnea antarctica* y *Usnea aurantiaco-atra* a las diferentes temperaturas estudiadas (-4°, 3°, 10°, 17°, 24°), y puntos de compensación y de saturación de luz (PPFDcomp, PPFDsat) obtenidos a partir del ajuste de los datos de intercambio gaseoso con la función de Smith. Los p-valores se obtuvieron comparando las dos especies mediante Student's t-test cuando los datos superaron las test de normalidad y de homocedasticidad. Cuando los datos que no superaron el test de normalidad (\*) o de homocedasticidad (\*\*), los p-valores se obtuvieron mediante el Mann-Whitney Rank Sum Test (N = 8, excepto para DRmax y GPmax, en cuyo caso N = 4).

<i>U. antarctica</i>					
	-4°	3°	10°	17°	24°
Amax	0,09 (0,02)	0,42 (0,14)	0,54 (0,20)	0,53 (0,25)	0,05 (0,33)
PPFDComp	76 (31)	109 (39)	142 (66)	257 (132)	-
PPFDSat	384 (140)	592 (86)	638 (162)	796 (133)	1284 (238)
DRopt	-0,11(0,04)	-0,28 (0,10)	-0,50 (0,17)	-0,92 (0,27)	-1,64 (0,57)
GPopt	0,20 (0,04)	0,70 (0,20)	1,04 (0,34)	1,45 (0,40)	1,69 (0,63)
DRmax	-0,33(0,15)	-0,65 (0,28)	-0,98 (0,40)	-1,54 (0,68)	-2,43 (0,96)
GPmax	0,40 (0,15)	1,12 (0,40)	1,65 (0,51)	2,18 (0,87)	2,65 (0,91)
<i>U. aurantiaco-atra</i>					
	-4°	3°	10°	17°	24°
Amax	0,06 (0,05)	0,30 (0,09)	0,48 (0,13)	0,43 (0,10)	0,07 (0,11)
PPFDComp	120 (120)	122 (26)	174 (46)	307 (74)	-
PPFDSat	558 (450)	572 (89)	723 (117)	880 (105)	1147 (82)
DRopt	-0,11 (0,02)	-0,29 (0,07)	-0,46 (0,10)	-0,86 (0,21)	-1,46 (0,34)
GPopt	0,17 (0,04)	0,60 (0,13)	0,94 (0,20)	1,29 (0,23)	1,53 (0,25)
DRmax	-0,36 (0,11)	-0,65 (0,21)	-1,11 (0,37)	-1,54 (0,57)	-2,28 (0,92)
GPmax	0,38 (0,10)	0,93 (0,25)	1,52 (0,42)	1,97 (0,62)	2,35 (0,78)
<i>p - values</i>					
	-4°	3°	10°	17°	24°
Amax	$p = 0,195^{**}$	$p = 0,061$	$p = 0,469$	$p = 0,574^{**}$	$p = 0,860$
PPFDComp	$p = 0,694^{*}$	$p = 0,195^{*}$	$p = 0,267$	$p = 0,130^{*}$	$p = 0,073^{*}$
PPFDSat	$p = 0,798^{*}$	$p = 0,655$	$p = 0,247$	$p = 0,182$	$p = 0,234^{**}$
DRopt	$p = 0,382^{*}$	$p = 0,811$	$p = 0,624$	$p = 0,637$	$p = 0,451$
GPopt	$p = 0,268$	$p = 0,240$	$p = 0,489$	$p = 0,340$	$p = 0,514$
DRmax	$p = 0,704$	$p = 1,000$	$p = 0,646$	$p = 0,999$	$p = 0,833$
GPmax	$p = 0,839$	$p = 0,343^{**}$	$p = 0,709$	$p = 0,696$	$p = 0,638$

Tabla 4. Óptimos de temperatura (Topt) y máxima fotosíntesis neta (NP) de *Usnea antarctica* y *Usnea aurantiaco-atra* obtenidas mediante el ajuste de la respuesta de NP a PPFD (del intercambio gaseoso) a 200, 400, 800, y 1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . En todos los casos los datos superaron los test de normalidad y homocedasticidad, por lo que los valores de probabilidad (p) se obtuvieron comparando ambas especies mediante Student's t-test. Los valores entre paréntesis son la Desviación Típica (N = 8).

Óptimo de temperatura (°C)			
PPFD	<i>U. antarctica</i>	<i>U. aurantiaco-atra</i>	p
200	5.8 (2.7)	4.9 (2.9)	0.505
400	9.2 (2.7)	8.6 (2.4)	0.674
800	10.9 (2.4)	11.4 (1.5)	0.630
1200	11.9 (2.4)	12.7(1.5)	0.438

NP máxima ( $\mu\text{mol kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ )			
PPFD	<i>U. antarctica</i>	<i>U. aurantiaco-atra</i>	p
200	0.19 (0.13)	0.13 (0.07)	0.284
400	0.38 (0.18)	0.26 (0.10)	0.135
800	0.56 (0.23)	0.46 (0.12)	0.301
1200	0.63 (0.23)	0.52 (0.11)	0.236

#### 4. Discusión

El presente estudio ecofisiológico se centró sobre dos especies del género *Usnea* comúnmente encontradas en la Antártida marítima: *U. antarctica* y *U. aurantiaco-atra*, que por mucho tiempo se han considerado un par de especies (Walker 1985). En base a estudios moleculares recientes, se ha sugerido su sinonimización, la cual todavía no se ha llevado a cabo (Wirtz *et al.* 2012). Hemos observado que estas dos especies son prácticamente idénticas en sus tasas de intercambio gaseoso (de  $\text{CO}_2$ ), y que así como su respuesta fotosintética frente a variables como temperatura luz y contenido hídrico del talo. NPmax, DRmax, los óptimos de temperatura, y le PPFD requerido para la compensación y la saturación de NP eran muy similares y no mostraron diferencias significativas entre especies (**Figuras 6 y 7; Tablas 3 y 4**). También los valores de WCopt eran casi idénticos para ambas especies, en torno al 70 %. El único parámetro fisiológico que resulto ser significativamente distinto entre las especies era WCmax, que era mayor para *U. aurantiaco-atra* (168%) que para *U. antarctica* (148 %).

La mayoría de parámetros y el WC eran bastante similares a los descritos en la literatura (Harrison & Rothery 1988; Kappen 1985; Kappen & Redón 1987; Schroeter *et al.* 1995), con la excepción de los valores de WCopt y WCmax descritos para *U. antarctica*, que eran mayores que los nuestros (Harrison & Rothery 1988; Schroeter *et al.* 1995). Las comparaciones no son fáciles, ya que en estudios previos se aplicaron distintas condiciones de medida (por ejemplo, Harrison & Rothery 1988, solo aplicaron un nivel de luz,  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); o bien se restringían a solo una de las especies (Kappen 1985, 1993; Kappen & Redón 1987; Kappen *et al.* 1987; Schroeter *et al.* 1995); o utilizaron fragmentos del talo para los cálculos de contenido hídrico, lo que afectaría a los valores WCopt, WCmax.

En contraste, hay grandes diferencias en la distribución de estas dos especies, tanto a escala local como en su distribución general. Localmente, las dos especies difirieron en su distribución altitudinal con *U. antarctica* confinada a altitudes de 100 m o menos, mientras que *U. aurantiaco-atra* abarcó todo el gradiente altitudinal disponible (0 – 275 m) con coberturas máximas entorno a los 150 m (**Figura 3**). Los cambios en la distribución de *Usnea* fueron acompañados por cambios en otras especies. En las altitudes inferiores, *U. antarctica* coexistía con la planta vascular *Deschampsia antarctica*, y con diversas especies de macrolíquenes, entre las que predominaban *Parmelia saxatilis*, *Stereocaulon alpinum*, *Cladonia* sp, y *Sphaerophorus globosus* (Tabla 2). En contraste, con el aumento de la altitud, todas estas especies desaparecieron, mientras que *U. aurantiaco-atra* aumentaba y la especie de liquen *Himantormia lugubris* apareció. La evidencia de estos patrones, y la correspondencia entre distintos elementos de la comunidad, refuerza la idea de que hay cambios ambientales determinando la presencia o la ausencia de distintas especies a lo largo del gradiente altitudinal.

También había una gran diferencia en la distribución general de especies, con *U. antarctica* que se extendía mucho más al sur, hasta cerca de los 78 °S, en la Isla de Ross, mientras que *U. aurantiaco-atra* esta confinada a la Península Antártica y lugares subantárticos más septentrionales (**Figura 4**). Nos encontramos por tanto ante un contraste interesante entre *U. antarctica*, que localmente en Isla Livingston se restringe en altitudes inferiores, con temperaturas 1.5 °C más cálidas (**Figura 5**), mientras que a lo largo del continente se extiende a lo largo de 9 ° de latitud más al sur que *U. aurantiaco-atra*, en lugares con MAAT en torno a 10 °C más frías. Cabe señalar que las especies clave aquí estudiadas son relativamente comunes y fácilmente reconocibles, lo que hace difícil pensar que, a pesar de los inventarios de vegetación Antártica estén en proceso, y a pesar de que futuros estudios contribuirán a

una mejor comprensión de este par de especies, su distribución general sea muy distinta de la aquí estimada, especialmente dada la magnitud de las diferencias aquí presentadas. La diferencia entre distribución local y general, sugiere por tanto que la temperatura media no es un factor ambiental que determine las distintas distribuciones de este par de especies. La disponibilidad hídrica sin embargo sí es una posible explicación, y nuestros datos microclimáticos muestran que el VPD acumulado se correlacionaba negativamente con la altitud en Isla Livingston, lo que significa que los sitios de menor altitud eran mucho más secos (en torno a 5 veces menores, **Figura 5**). Así, *U. antarctica* que crecía solo en altitudes menores, se restringe localmente a lugares mucho más secos. Esto concuerda con su presencia en la Antártida continental, donde *U. aurantiaco-atra* no está, que es un lugar mucho más seco que la Antártida marítima (cinco veces más seco si consideramos la precipitación media anual como una aproximación de la disponibilidad hídrica). Por tanto, algunos aspectos de las relaciones hídricas podrían explicar las diferencias de distribución de estas dos especies, por lo que sería de gran interés seguir investigando en este sentido.

Hemos encontrado que las dos especies son casi idénticas en su comportamiento fotosintético; ciertamente no hay diferencias suficientemente grandes que apoyen las variaciones de su distribución. Sin embargo, la similitud del comportamiento fotosintético podría bien ser el resultado de que las condiciones de temperatura y luz sean casi idénticas cuando los líquenes están activos. Los líquenes pueden mostrar un comportamiento fotosintéticos similar en distintas áreas climáticas de la Antártida, a pesar de grandes diferencias geográficas (Schroeter *et al.* 2010, 2011). Se ha sugerido que variaciones en los periodos de actividad tengan importantes efectos en el desarrollo de los líquenes (Green *et al.* 2011; Schroeter *et al.* 2010), un asunto que se explora en el **Capítulo 4** de la presente tesis doctoral. Un mayor déficit hídrico en sitios con VPD superiores, provocaría diferencias en la longitud de los periodos cuando los líquenes están activos, que debería reflejarse en el desarrollo de los líquenes. Desafortunadamente, no hay datos de actividad disponibles para las dos especies aquí estudiadas, solo para *U. aurantiaco-atra* (Schroeter *et al.* 2000, 2010).

Sin embargo, aunque VPD, como una medida del déficit hídrico, parece estar localmente asociado a la altitud, no explicaría las diferencias de cobertura en relación a la pendiente, ya que no variaba significativamente entre sitios horizontales y verticales. Las limitaciones logísticas dificultan con frecuencia las investigaciones antárticas a ciertas localidades con ciertas facilidades de acceso, por lo que los resultados del sistema específico estudiado en

Livingston deben de ser extrapolados con precaución a todo el rango distribucional de las especies estudiadas, y futuros estudios serán necesarios para avanzar en este sentido.

El único estudio que compara las tasas de crecimiento de estas especies (Li *et al.* 2014) muestra que *U. aurantiaco-atra* tiene una tasa de crecimiento mucho mayor ( $4.3 - 5.5 \text{ mm y}^{-1}$ ) que *U. antarctica* ( $0.4 - 1.1 \text{ mm y}^{-1}$ ). Hooker (1980) encontró tasas de crecimiento similares para *U. antarctica*. Dichas tasas de crecimiento concordarían con periodos de actividad más largos debidos a hábitats menos secos y mayores contenidos hídricos (WC<sub>max</sub>). Por otro lado, no solo es importante la tasa absoluta de fijación de CO<sub>2</sub>, sino que también lo que el organismo haga con el carbono fijado (los patrones de distribución de carbono), ya que algunas especies lo dedican al crecimiento, y otras a la supervivencia, lo cual se puede estudiar mediante el seguimiento del carbono recientemente fijado (Colesie *et al.* 2014). Por tanto, distintos patrones de crecimiento podrían relacionarse con distintos patrones de distribución del carbono fijado. Algunas especies de líquenes muestran una relación positiva entre aridez del clima y producción de soredios (Hestmark 1991), lo que también concuerda con nuestras observaciones. Es muy posible que otros factores estén contribuyendo simultáneamente al desarrollo y la distribución de estos dos líquenes que hasta la fecha no han sido estudiados en profundidad.

La distribución de *U. antarctica* también ha sido descrita como costera (Øvstedal & Smith 2001; Walker 1985). En la región del mar de Ross, el límite austral de distribución de *U. antarctica* coincide con el límite sur de mar abierto (es decir, el límite de la banquisa de hielo de Ross). Diversos factores ambientales están influenciados por la presencia de mar abierto (Bargagli *et al.* 2003), pero el que con más probabilidad afectaría a *U. antarctica* es la cantidad de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo, que se generan principalmente por la presencia de pingüinos y focas. La disponibilidad de nutrientes se ha sugerido como un importante factor limitante para la fotosíntesis y el crecimiento en la Antártida marítima (Valladares & Sancho 2000), y algunos autores han relacionado la aparición de *U. antarctica* con niveles elevados de nutrientes (Walker 1985; Hancock & Seppelt 1988). Un último factor a tener en cuenta es la profundidad y duración de la cobertura de nieve, que puede cambiar con altitud, pero del que se sabe muy poco, lo que dificulta las interpretaciones (Kappen 1993).

Empieza a parecer claro que *U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica* son muy próximas, si no idénticas, filogenéticamente hablando, y aunque todavía no se ha confirmado, es probable que dentro de no mucho se unan en un solo taxón (Wirtz *et al.* 2012). Probablemente es más



correcto considerarlas como dos morfotipos de una misma especie, lo que nos permitiría considerarlas un caso de plasticidad fenotípica. En ese caso, cada morfotipo representaría una respuesta de la misma especie ante distintas condiciones ambientales. Las ventajas y desventajas de la plasticidad fenotípica son bien conocidas en plantas superiores (Calloway *et al.* 2003). Aunque los mecanismos que controlan los fenotipos todavía no están claros, se sabe que la plasticidad fenotípica puede ser importante en líquenes, como una posible adaptación a condiciones locales (Pintado *et al.* 1997). Un ejemplo serían los cambios de fotobionte que ahora se han observado en muchos ambientes y especies (Ruprecht *et al.* 2012; Pérez-Ortega *et al.* 2012; Jones *et al.* 2013). La característica obvia que diferencia los fenotipos aquí es la estrategia reproductiva, y según a la literatura y nuestros resultados no está claro que factor ambiental controla este cambio morfológico. Se considera que las diferencias en la capacidad de dispersión de las dos formas sea de hecho el factor impulsor, pero esto parece poco probable por su distribución que solapa en el lugar de estudio y en otras regiones. Es posible que la estrategia reproductiva sea una respuesta vía plasticidad fenotípica a fluctuaciones ambientales, pero Hestmark (1991), quien investigó un largo número de pares de especies en *Umbilicaria*, que también se diferenciaban principalmente en su modo de dispersión, no pudo encontrar una conexión general con el ambiente, a pesar de que había cierta evidencia de que la aridez ha de ser una influencia que actuó a través del mecanismo de reproducción sexual.

Para poder alcanzar una mejor comprensión del par de especies aquí estudiado hemos comenzado analizando temperatura, la humedad relativa y el intercambio gaseoso. Será necesario seguir mejorando la base de datos de su distribución y también de las condiciones ambientales locales, añadiendo otros factores a los ya señalados. Nuestras conclusiones principales son que: (1) ambas especies tienen idénticos perfiles fotosintéticos en relación al óptimo contenido hídrico, PPFD y temperatura; (2) la temperatura no es el principal factor que determina la diferencia de distribución entre especies; (3) las especies estudiadas difieren en el contenido hídrico del talo máximo, que era significativamente mayor en *U. aurantiacota* que en *U. antarctica*; (4) *U. antarctica* se asocia a regiones relativamente más secas en su distribución general, y localmente a sitios con mayores valores de VPD.

## Capítulo III

### **Estudio ecofisiológico de los líquenes del género *Usnea* presentes en la tundra alto-andina de Isla Navarino (Tierra de Fuego, Chile)**



## 1. Introducción

La Isla Navarino (55°10'S 67°03'W) se encuentra en el extremo más austral del archipiélago de Tierra del Fuego, Chile, dentro de la Reserva de la Biosfera del Cabo de Hornos (RBCDH) establecida en 2005 por la UNESCO (<http://www.unesco.org>). La RBCDH forma parte de la ecorregión Subantártica Magallánica, que se extiende en el suroeste de Sudamérica desde los 47°S hasta los 56°S (Olson & Dinerstein 1998, Olson *et al.* 2001, Morrone 2000, Rozzi *et al.* 2008). En la Metodología General se incluye un mapa mostrando la delimitación de dicha reserva. La ecorregión Subantártica Magallánica se ha señalado como una de las 24 áreas naturales terrestres mejor conservadas del planeta, dado que más del 70% de su vegetación se conserva en su estado prístino y ha permanecido libre de actividades humanas extensivas hasta la actualidad, que incluye un área de más de 10.000 km<sup>2</sup> con escasa conectividad y desarrollo urbano e industrial, y que alberga una de las densidades de población humanas más bajas, de 0.14 habitantes por km<sup>2</sup> (Mittermeier *et al.* 2003). Sin embargo, los esfuerzos de investigación para la conservación invertidos en estos ecosistemas son escasos, al igual que en el resto de bosques templados sudamericanos (Lawler *et al.* 2006, Rozzi *et al.* 2012).

La flora vascular y criptogámica del sur de Sudamérica presenta ciertas similitudes y conexiones con la de Nueva Zelanda, Sudáfrica y otras localidades antárticas y subantárticas (Winkworth *et al.* 2002, Muñoz *et al.* 2004), lo que ha llevado a incluirla dentro del reino florístico austral (Moreira-Muñoz 2007). En la región Subantártica Magallánica, los bosques de *Nothofagus* (lengas, coigües y ñirres) dominan la vegetación, aunque puntualmente pueden ser reemplazados por turberas (principalmente compuestas por musgos del género *Sphagnum*) o por formaciones de tundra alto-andina en las zonas de mayor altitud (Pisano Valdés 1997). La diversidad de criptógamas a estas latitudes es particularmente elevada. Solo para Isla Navarino se han identificado 117 especies de musgos (Buck & Goffinet 2010) y 336 especies de líquenes (Etayo *et al. in prep.*). En el caso de los briófitos, por ejemplo, se ha comprobado que la riqueza a nivel regional supera la de las plantas vasculares (Rozzi *et al.* 2012, Méndez *et al.* 2013). Todo esto ha puesto en evidencia la relevancia de las criptógamas en la región, relativamente menos estudiadas hasta la fecha, pero que representan la mayor parte de la diversidad vegetal en los ecosistemas subantárticos magallánicos.

Tuhkanen (1992) revisó a fondo las principales características climáticas del archipiélago de Tierra de Fuego. Esta región presenta una latitud media-alta, donde los vientos del oeste son

constantes a lo largo de prácticamente todo el territorio, y sobre el que pasa un cinturón de ciclones relativamente frecuentes. La cercanía de los hielos antárticos y el frente circumpolar afectan a las temperaturas, que son relativamente bajas para la latitud y, particularmente en invierno, se ven afectadas por intrusiones de masas de aire antártico. Es un archipiélago y por tanto está rodeado casi completamente por tres océanos (Pacífico, Atlántico y Antártico) lo que le confiere una oceanicidad muy elevada. Su relieve, caracterizado por la presencia de la cadena andina, provoca un pronunciado gradiente en dirección este-oeste, principalmente de precipitación. Todos estos elementos climáticos han modelado una vegetación que, dada su particularidad, ha generado cierta controversia a la hora de ser clasificada. Distintos autores han denominado las principales formaciones de vegetación de la región (bosque, estepa y tundra) con calificativos tan variados como: templadas-frías; magallánicas, patagónicas, subantárticas o subpolares entre otras. De nuevo es Tuhkanen (1992) quien analiza dicha controversia y termina estableciendo una terminología basada en el concepto de “anti-boreal”. Las tierras emergidas en el hemisferio Sur a estas latitudes son escasas, por lo que son muy pocas las regiones cuya vegetación se catalogaría como antiboreal. Entre ellas destacan las islas Auckland y Campbell y Macquarie, al sur de Nueva Zelanda; las Islas Falkland, al este de Sudamérica; y algunas zonas montañosas de Nueva Zelanda, Tasmania y de la Patagonia. Este concepto ha sido recogido por Rivas-Martínez et al (2011) en su clasificación bioclimática preliminar de esta región en Sudamérica. Sin embargo, los calificativos de subantártico y magallánico siguen estando vigentes (Morrone 2000, 2002; Brancaloni *et al.* 2003; Rozzi *et al.* 2008, 2012).

En las formaciones montañosas que recorren Tierra del Fuego en toda su longitud, las condiciones climáticas se vuelven más severas con el incremento de la altitud. Esto dificulta el desarrollo de la vegetación, principalmente debido a un descenso de la temperatura estimado en unos 0.6 K por cada 100 m s.n.m. (Körner 1999). La altitud en la cual las bajas temperaturas impiden el desarrollo de vegetación arbórea se conoce como el “límite del bosque”. Más allá del límite del bosque se encuentran las zonas alpinas, con una temperatura media del mes más cálido por debajo de los 10 °C, y en el caso de Tierra del Fuego en particular, por debajo de los 6 °C (Tuhkanen 1992, Mark *et al.* 2001). Las condiciones de las zonas alpinas extratropicales se asemejan bastante a las de las regiones polares y subpolares, aunque generalmente son zonas mejor drenadas, sin permafrost, y que reciben mucha más radiación (Green 2009). La altitud donde se sitúa el límite del bosque depende de la latitud entre otros factores. El límite altitudinal del bosque en Tierra de Fuego es relativamente poco elevado (entorno a los 600 m) y da lugar a una vegetación de tundra característica, también conocida como tundra alto-

andina o andi-alpina (Tuhkanen 1992, Mark *et al.* 2001, Brancaloni *et al.* 2003). A todo esto se suma que, en altitudes elevadas, la erosión por heladas produce acumulaciones de rocas fragmentadas o detritos, cuyo tamaño oscila entre arenas más o menos finas y fragmentos grandes, generalmente clasificados como litosoles con muy bajo contenido orgánico. La vegetación alpina en Tierra del Fuego se caracteriza por la presencia de plantas de crecimiento en cojín de los géneros *Bolax* y *Azorella*, y de otras leñosas rastreras como *Empetrum rubrum* (Pisano Valdés 1977, Tuhkanen 1992, Luebert & Plischoff 2002), acompañadas por gran diversidad de musgos y líquenes (Redón & Quilhot 1977, Etayo & Sancho 2008, Méndez *et al.* 2013). Con el aumento de la altitud, las plantas vasculares se van volviendo cada vez más escasas, para dar lugar a las comunidades de tundra dominadas por criptógamas. Entre ellas destacan, por su abundancia y por ser típicas de las regiones alpinas australes, los líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* (o neuropogonoides).

Los líquenes son componentes importantes en términos de estructura y función en los ambientes alpinos, árticos y antárticos (Green 2009). Los líquenes del grupo Neuropogon en concreto, se han señalado como posibles bioindicadores del cambio climático, por su distribución restringida a ciertas regiones polares y alpinas, y a ciertos micro ambientes en dichas regiones (Ellis & Yahr 2011). Los mismos autores, en su revisión interdisciplinar de las tendencias e incertidumbres del cambio climático, indican que los ambientes árticos y alpinos están directamente amenazados por el calentamiento global, ya que los modelos predictivos muestran una pérdida de espacio bioclimático, y en algunos casos ya se han observado cambios de distribución y fenología de algunos elementos de vegetación. De hecho se prevé que, de entre todos los impactos que la actividad humana está teniendo sobre los sistemas naturales, sea el cambio climático el que tenga un mayor impacto sobre los sistemas alpinos (Sala *et al.* 2000). Por otro lado, el Panel Internacional sobre el Cambio Climático (IPCC 2007) en sus predicciones para el próximo siglo en Sudamérica destaca, más allá del aumento de temperatura, otros efectos también probables como que la precipitación anual disminuya con cambios relativamente mayores en verano. A nivel más local, las predicciones para las regiones australes sudamericanas pronostican tendencias de marcado carácter estacional. Es probable que la precipitación aumente en Tierra de Fuego durante el invierno, y en el sudeste de Sudamérica durante el verano. Además, cambios de circulación atmosférica podrían inducir a escala local gran variabilidad de efectos en las precipitaciones, sobre todo en áreas montañosas.

Algunas especies de líquenes del grupo *Neuropogon* han sido investigadas desde el punto de vista ecofisiológico en distintas localidades de la Antártida Marítima y Continental, tanto desde el punto de vista de la supervivencia en condiciones extremas como por su evidente papel estructural en muchas comunidades vegetales. La mayoría de trabajos se centran en su respuesta fotosintética en relación al microclima *in situ* o bajo condiciones controladas de temperatura, luz, y humedad, utilizando técnicas de intercambio gaseoso (Lange & Kappen 1972, Kappen 1983, Kappen 1985, Kappen & Redón 1987, Kappen *et al.* 1987, Harrisson & Rothery 1988, Kappen 1989, Kappen 1990, Kappen & Breuer 1991, Schroeter *et al.* 1995, Laguna-Defior *et al.* 2015). Otros autores abordaron la selección de hábitat de estos líquenes y sus relaciones con otros líquenes y con su entorno (Hancock & Seppelt 1988, Ryan & Watkins 1989, Crittenden 1998, Valladares & Sancho 2000, Pintado *et al.* 2001, Vieira *et al.* 2014), y cada vez se sabe más sobre sus periodos de actividad (Hovenden *et al.* 1994, Schroeter *et al.* 1997, Schroeter *et al.* 2000, Schroeter *et al.* 2010).

Las especies de líquenes del grupo *Neuropogon* estudiadas en dichos trabajos de carácter eminentemente ecofisiológico son: *U. sphacelata* en la Antártida Continental; *U. aurantiacatra* en la Antártida Marítima; y *U. antárctica*, que aparece en ambas regiones y se ha comparado con las dos anteriores (aunque en ocasiones bajo la denominación errónea de “*Neuropogon acromelanus*”, según Kappen 1993). Todos estos trabajos se desarrollaron por tanto en distintas localidades de la Antártida Marítima o Continental. Sin embargo se sabe muy poco de la distribución local y el comportamiento fotosintético de las distintas especies del grupo *Neuropogon* en la región altoandina, donde también ocupan un lugar destacado. Por otro lado, los estudios de vegetación en Tierra del Fuego, generalmente centrados en las plantas vasculares, se suelen referir a estos líquenes como si de un solo taxón se tratara (Mark *et al.* 2001, Brancaloni *et al.* 2003), mientras que, por el contrario, los estudios taxonómicos muestran una mayor diversidad de *Usnea* en las regiones altoandinas del extremo más austral de Sudamérica (Walker 1985, Wirtz *et al.* 2008, Lumbsch & Wirtz 2011).

En el presente capítulo se presenta, por primera vez para la región de Tierra del Fuego, un estudio desde un punto de vista ecofisiológico de las comunidades de tundra altoandina dominadas por líquenes del grupo *Neuropogon* del género *Usnea*. El trabajo, que incluye datos de cobertura, microclima e intercambio gaseoso, se planteó en base a los siguientes objetivos concretos: (1) Determinar la abundancia relativa de las distintas especies de *Usnea* y de los grupos de vegetación que conviven con ellas en las comunidades de tundra estudiadas; (2) Analizar las variaciones de cobertura de dichos elementos de vegetación en relación a las

variables ambientales de altitud, mesotopografía, tamaño de roca y pendiente del sustrato; (3) Determinar las variaciones locales del microclima (humedad, temperatura, déficit hídrico y presencia de nieve) en las comunidades de tundra estudiadas; y (4) Comparar la respuesta fotosintética de las principales especies del grupo *Neuropogon* del género *Usnea* encontradas en Isla Navarino bajo condiciones controladas de humedad, luz y temperatura.

## 2. Material y métodos

### 2.1 Descripción breve del área de estudio

La zona investigada se encuentra en Isla Navarino, Chile (55°10'S 67°03'W, ver mapa en la Metodología General). Concretamente se ubica en una elevación conocida como Cerro Bandera, entre las altitudes de 600 y los 850 m s.n.m. Los datos de la estación meteorológica más cercana (a 0 m s.n.m.) son 6.0 °C de temperatura media anual, y 448 mm de precipitación media anual, (Luebert & Pliscoff 2006). A este respecto, ha de tenerse en cuenta que la temperatura disminuye en torno a 0.6 K por cada 100 m de elevación, y que la precipitación también puede variar con la altitud, siendo con frecuencia en forma de nieve en regiones alpinas (Körner 1999). La isla pertenece a la provincia biogeográfica Austromagallánica Boreal, y su bioclima se ha descrito como Boreal Hiperoceánico (Rivas-Martínez *et al.* 2011). La vegetación de la zona está formada predominantemente por bosques caducifolios de hayas australes (género *Nothofagus*). Pero por encima del límite forestal (a unos 600m s.n.m.) se desarrolla la tundra altoandina, caracterizada por plantas de crecimiento almohadillado y comunidades de criptógamas saxícolas que muestran una clara afinidad con la región de la Antártida Marítima. Los estudios de cobertura, microclima y fisiología aquí presentados se desarrollaron en las comunidades de tundra dominadas por líquenes neuropogonoides del género *Usnea*, entre los años 2011 y 2013. En el apartado de Metodología General se pueden encontrar más detalles sobre el área de estudio y sobre los líquenes del grupo *Neuropogon*.

### 2.2 Estudios de cobertura

Se definió un área de trabajo de 2 km<sup>2</sup> en el Cerro Bandera entre los 600 y los 850m s.n.m. (sobre el nivel del mar), es decir, en un gradiente altitudinal de 250 m de desnivel. Los suelos desnudos se extendían ampliamente en el área de estudio, por lo que previamente a la selección de los puntos de muestreo, fue necesaria la identificación de manchas de vegetación



presentes en las distintas formaciones de relieve (pequeñas elevaciones entorno a un circo glacial) del área de estudio. Una vez identificadas las manchas de vegetación, se definieron 15 puntos de muestreo, que se distribuyeron homogéneamente a lo largo del gradiente altitudinal de 250 m, y de forma estratificada entre las distintas formaciones de relieve y categorías previamente establecidas de mesotopografía (planicies o laderas y crestas); tamaño de roca (piedras < 10 cm, piedras de 10-50 cm, o rocas > 50 cm, también denominadas “bloques”); y niveles de pendiente (°), ver **Tabla C1 del ANEXO C**.

Se estudió la cobertura de las distintas especies de *Usnea* mediante inventarios realizados con la ayuda de un marco o “quadrat” de 50 x 50 cm. En cada uno de los 15 puntos de muestreo se realizaron cuatro inventarios, los cuales posteriormente se promediaron para estudiar un total de 1 m<sup>2</sup> por sitio. El quadrat a su vez estaba subdividido mediante una rejilla en celdas de 25 x 25 cm, lo cual facilitó el cálculo de los porcentajes de cobertura. También se estimó el porcentaje de cobertura para otras especies de líquenes mayoritarias, teniendo en cuenta todos los macrolíquenes con un porcentaje de cobertura de al menos un 1% del hueco de rejilla (25 x 25 cm) y excluyendo los líquenes de biotipo crustáceo. En cada uno de los puntos estudiados se recolectaron una serie de muestras de *Usnea* para la posterior confirmación de su identidad mediante análisis morfológicos y moleculares, resultados que se detallan en la Tabla A1 del ANEXO A. Además de las distintas especies de macrolíquenes, del mismo modo se cuantificaron el resto de grupos de vegetación agrupados en las siguientes categorías: (1) plantas vasculares pulviniformes (en adelante “plantas en cojín”) y leñosas rastreras; (2) gramíneas y otras herbáceas; y (3) briófitos. Los taxones más representativos de cada uno de estos grupos fueron identificados a nivel de Género. De este modo se pudo obtener una visión general del conjunto de la comunidad estudiada de cara a la interpretación de los resultados de las especies de *Usnea*, una información relevante de cara a las posibles interacciones entre grupos.

### **2.3 Estudios de microclima**

En 2012 se instalaron diez sensores Ibutton<sup>®</sup> (Maxim, Reino Unido) DS1923-Hygrochron, disponiéndolos de tal modo que abarcaran todo el rango altitudinal del área de trabajo, entre 600 y 800m s.n.m.. Los mismos sensores a su vez se repartieron de forma homogénea entre las categorías de pendiente (horizontal y vertical) y las de tamaño de roca (piedras < 50 cm y bloques > 50 cm). Todos los sensores ubicados en bloques se encontraban en pendientes

relativamente verticales, y todos los sensores ubicados en piedras se encontraban en sitios relativamente horizontales (ver **Tabla C2 del ANEXO C**). Este solapamiento de variables se debió en parte a limitaciones logísticas (solo diez sensores disponibles) y en parte a la propia distribución de los líquenes estudiados, que generalmente, abundan en las pendientes verticales cuando crecen en bloques; y sin embargo, cuando crecen en detritos pequeños, aparecen en pendientes menores.

Los sensores se instalaron mediante un soporte plástico atornillado a la misma roca donde los líquenes estaban creciendo, del mismo modo que en Laguna-Defior *et al.* 2015. Todos los sensores fueron sincronizados y programados para registrar temperatura (T, °C) y humedad relativa (RH, %) cada tres horas. El periodo registrado se extendió entre el 29/04/2012 y el 04/03/2013, es decir unos diez meses, periodo determinado por la capacidad de almacenamiento de los aparatos. Uno de los diez sensores (el iButton #7) falló en el registro de datos de humedad y solo realizó registro de temperatura, por lo que se obtuvieron un total de nueve sets de datos con registros sincronizados de temperatura y humedad, y un set de datos únicamente con valores de temperatura. A partir de los datos obtenidos de humedad y temperatura se pudieron estimar otros factores ambientales de interés como el déficit hídrico y la duración de la cobertura nival.

Para estimar el déficit hídrico primero fue necesario calcular el parámetro Presión de Vapor de Saturación (SVP) según Murray (1967) mediante la ecuación  $[SVP \text{ (Pascals)} = 610.7 * 10^{7.5T / (237.3 + T)}]$ . A partir de él se pudo calcular el parámetro de interés, denominado Déficit de Presión de Vapor (VPD), mediante la ecuación  $[VPD \text{ (Pascals)} = (1 - (RH/100)) * SVP]$  y en base a los datos de temperatura y humedad relativa. Éste parámetro es una medida aproximada del potencial desecante del aire. El VPD se calculó para cada tres horas a partir de cada par de registros de temperatura y humedad relativa, así como para cada día en base a la temperatura media diaria y la humedad relativa media diaria. Para analizar las diferencias en la duración de la cobertura nival entre sitios se estimó el número de días que había pasado el sensor (y por tanto los líquenes) bajo nieve. Se consideraron como días con nieve aquellos en que se dio en las inmediaciones del liquen la siguiente combinación de condiciones: RH diaria constante del 100% y T comprendida entre 0 y -8 °C. Dichas estimaciones se realizaron en base a los valores de temperatura bajo la nieve típicos en la Antártida Marítima, entre los 0 °C y los -8 °C (según Davey *et al.* 1992); y a la estabilidad microclimática esperable bajo la misma (Körner 1999).

Finalmente, para cada uno de los sets de datos se calcularon, para todo el periodo registrado de diez meses: (1) las medias de temperatura y (2) humedad relativa; (3) el VPD acumulado; (4) el número de días con déficit hídrico superior a cero; y (5) una estimación del número de días bajo nieve.

## **2.4 Caracterización ecofisiológica de *Usnea***

### **2.4.1 Selección de especies**

Para la caracterización ecofisiológica se seleccionaron cuatro especies de *Usnea*, de entre las especies presentes, en base a los siguientes criterios: que fueran representativas de la diversidad morfológica y genética de la zona de estudio; y que en la medida de lo posible fueran comparables con los estudios previos de ecofisiología del grupo. Con respecto a la diversidad morfológica se tuvieron en cuenta: la estrategia reproductiva predominante (soredios / apotecios); el tipo de ornamentación del córtex (papilas, fibrilas, liso); y el grosor del cordón axial en relación al diámetro de la rama (fino / grueso), uno de los caracteres anatómicos más destacados para la identificación de linajes monofiléticos dentro del grupo *Neuropogon* (Seymour *et al.* 2007). Con respecto a la diversidad genética se tuvieron en cuenta los principales complejos de especies descritos para el grupo (Lumbsch & Wirtz, 2011). En base a esto se escogieron dos especies de cordón axial grueso (*U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica*), y dos especies de cordón axial fino (*U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*). Las dos primeras, de cordón axial grueso, conforman un par de especies, han sido recientemente estudiadas en la Antártida (Laguna-Defior *et al.* 2015) y pertenecen al complejo de especies “*U. aurantiaco-atra* complex”. Las dos últimas, de cordón axial fino, (*U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*) hasta la fecha no han sido estudiadas desde el punto de vista ecofisiológico, y pertenecen a los complejos “*U. sphacelata* complex” y “*U. perpusilla* complex” respectivamente. Para más detalles sobre los complejos y especies consultar el ANEXO A.

### **2.4.2 Diseño experimental**

Se recolectaron diez talos intactos de cada una de las especies objeto de estudio en una zona donde todas las especies crecían más o menos próximas (54° 58' S; 67° 37' W). El peso seco (dw) medio de los especímenes estudiados fue de 1,65 g  $\pm$  0,5 para *U. antarctica*, 1,41 g  $\pm$  0,5 para *U. aurantiaco-atra*, 1,74 g  $\pm$  0,6 para *U. trachycarpa*, 1,70 g  $\pm$  0,7 para *U. ushuaiensis*.

Las muestras se secaron a temperatura ambiente, se transportaron en seco hasta el laboratorio y se almacenaron congeladas a -21 °C después de haber sido eliminado cualquier resto de sustrato o fragmentos de otros líquenes. El almacenamiento en seco y entorno a los -20 °C es un procedimiento común en estudios ecofisiológicos, y estudios previos han demostrado para distintas especies de líquenes que este proceso no altera los parámetros fisiológicos de las muestras [Larson 1989]. En el presente trabajo, además, se descartaron posibles efectos adversos de la congelación mediante una serie de pruebas entre talos congelados y no congelados. El número de talos disponibles para el resto de experimentos fue N = 8 (para *U. aurantiaco-atra*, *U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*), y N = 6 para *U. antártica*.

Previamente a las medidas de intercambio gaseoso se aplicó el siguiente procedimiento para reactivar los líquenes. En primer lugar, el material que estaba congelado se introdujo en una cámara de crecimiento (Fitotron® SGC 120 Plant Growth Chamber) durante 24 horas en condiciones de oscuridad a 5 °C y 70 % RH. Seguidamente, los especímenes descongelados se mantuvieron durante otros tres días en la cámara de crecimiento alternando periodos de doce horas de luz (a 10 °C y 70 % RH) y doce horas de oscuridad (a 5 °C y 70 % RH). Durante estos tres días las muestras fueron rociadas con spray de agua una vez al día (a primera hora de la mañana) hasta quedar empapadas mediante un dispositivo de riego programable que se describe en la Metodología General, y bajo condiciones de luz de  $100 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD (densidad de flujo de fotones fotosintéticos).

Una vez reactivados los líquenes se comprobó la vitalidad de los talos mediante técnicas de fluorescencia que determinaban el estado del fotosistema II (PSII). Para ello se aplicó un pulso de luz saturante mediante un fluorómetro miniPAM (Walz, Alemania) sobre las muestras (activas) después de un periodo de 20 minutos en oscuridad. Se obtuvieron valores máximos de rendimiento cuántico fotosintético (Yield) en torno a 0.6 y por tanto incluidos en el rango propio de muestras de líquenes en buen estado (que según Kappen *et al.* 1998 oscila entre 0.45 y 0.65). Los valores de Yield disminuyeron progresivamente, como era de esperar, en respuesta a un incremento gradual de los niveles de luz. Las mismas medidas se llevaron a cabo al final del experimento para comprobar la evolución de la vitalidad de las muestras. No se encontraron diferencias significativas en los valores de Yield medidos previamente y posteriormente a las medidas de intercambio gaseoso (ver **Figura C1 del ANEXO C**). En el apartado sobre “Monitorización de periodos de actividad” de la Metodología General se profundiza más en los fundamentos de este tipo de técnicas.

Las medidas de intercambio gaseoso se llevaron a cabo utilizando un sistema de mini-cubeta CMS400 (Walz, Alemania, más detalles en la Metodología General) bajo condiciones controladas de luz y temperatura. Para estos experimentos se utilizaron talos completos, incluyendo sus partes más viejas o estructuras de fijación a la roca, con la idea de estimar el perfil fotosintético de todo el espécimen y no solo de las partes más productivas. Antes de cada experimento, las muestras fueron rociadas con agua repetidamente (tres veces a lo largo de 30 minutos) y finalmente sumergidas en agua durante cinco minutos para que alcanzaran el contenido hídrico máximo (WC<sub>max</sub>). El contenido hídrico de las muestras (WC) se calculó a partir del peso hidratado (WW) y del peso seco (dw) en gramos mediante la fórmula  $WC = [(WW - dw) / dw] * 100$ . Los resultados de intercambio gaseosos se expresaron en base al peso seco de la muestra, que se estimó a partir del peso seco en estufa (100 °C / 24 h) de un fragmento de cada espécimen. La variación de peso observada con respecto al peso fresco fue de un 10 %.

El contenido hídrico óptimo (WC<sub>opt</sub>) para la Fotosíntesis Neta (NP) se determinó mediante curvas de deshidratación elaboradas a partir del intercambio gaseoso sobre talos inicialmente saturados de agua, que se dejaron secar gradualmente. Las condiciones en que se llevaron a cabo las curvas de deshidratación fueron 10 °C y 800  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD. Se tomó como WC<sub>opt</sub> el contenido hídrico correspondiente a la máxima tasa fotosintética alcanzada durante la deshidratación (en el máximo de la curva). Seguidamente, se procedió a determinar para cada muestra la curva de luz, es decir, la respuesta de la tasa fotosintética frente a la luz en el óptimo de hidratación. Para ello se utilizó una secuencia de siete niveles de luz o PPFD (25, 50, 100, 200, 400, 800 y 1200  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Estas medidas se realizaron a cinco temperaturas (-3, 4, 10, 17 y 24 °C) en cinco días consecutivos. Previamente a las citadas medidas de fotosíntesis, también se midió, para cada una de las temperaturas, el valor de respiración en oscuridad (DR) en el WC<sub>opt</sub> (DR<sub>opt</sub>) y en el WC<sub>max</sub> (DR<sub>max</sub>).

Los datos de laboratorio de respuesta fotosintética a la luz se ajustaron mediante la función de Smith (Smith 1938; see Green *et al.* 1997) obteniéndose así los parámetros de máximo fotosintético (A<sub>max</sub>), y los puntos de compensación de luz (PPFD<sub>comp</sub>) y de saturación de luz (PPFD<sub>sat</sub>) para cada temperatura. El PPFD<sub>comp</sub> es la radiación ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en la que NP alcanza valores positivos, y el PPFD<sub>sat</sub> es la radiación en la que NP alcanza un 90 % de A<sub>max</sub>. También se representaron los mismos datos de NP frente a la temperatura y, mediante el mejor ajuste (función cubica), se obtuvieron curvas de temperatura a distintas intensidades

de luz o radiaciones. A partir de las curvas de temperatura se estimaron los óptimos de temperatura ( $T_{opt}$ ) en el punto correspondiente al máximo fotosintético de este ajuste ( $NP_{max}$ ). Los parámetros  $A_{max}$  y  $NP_{max}$  por tanto son estimaciones similares de la tasa de fotosíntesis neta, pero procedentes de distintos ajustes (el ajuste de Smith sobre las curvas de luz y el ajuste cúbico sobre las curvas de temperatura, respectivamente). Posteriormente se calcularon las tasas de fotosíntesis bruta (GP) a partir de los datos de  $A_{max}$  y DR, siendo:  $GP_{max}$  la fotosíntesis bruta calculada a partir de la respiración en el  $WC_{max}$  [ $GP_{max} = A_{max} + GP_{max}$ ]; y  $GP_{opt}$  la fotosíntesis bruta calculada a partir de la respiración en el  $WC_{opt}$  [ $GP_{opt} = A_{max} + GP_{opt}$ ].

## 2.5 Análisis de datos

Para la realización de análisis estadísticos y gráficos se utilizaron los programas Sigmaplot® 10.0 y XVI StatGraphics® Centurion. Los datos de vegetación se agruparon en las siguientes categorías para su análisis: (1) cojines y leñosas rastreras, (2) gramíneas y otras herbáceas, (3) briófitos, (4) líquenes del género *Usnea* y (5) otros macrolíquenes. Posteriormente se analizaron por separado y a nivel específico las especies pertenecientes al grupo objeto de estudio (género *Usnea*). Para los análisis de cobertura en relación a variables continuas (altitud, pendiente del sustrato) se utilizaron regresiones lineales. Para las variables categóricas (tamaño de roca, mesotopografía) se utilizaron distintos test paramétricos (Student t-test, ANOVA simple) o no paramétricos (Mann-Whitney Rank Sum Test, Kruskal-Wallis ANOVA simple on Ranks) en función del número de categorías y del tipo de distribución de datos. Con respecto a los datos de microclima, una vez calculadas las medias para el periodo de diez meses registrado, se analizó la relación de las mismas con otras variables ambientales (altitud, pendiente, tamaño de roca, y mesotopografía). Para ello se utilizaron, en función del tipo de variable ambiental (continua o categórica), regresiones, análisis de Student t-test y ANOVAS. Los parámetros fisiológicos ( $WC_{max}$ ,  $WC_{opt}$ ,  $NP_{max}$ ,  $T_{opt}$ , DR, GP,  $A_{max}$ , PPFDcomp y PPFDsat) se compararon entre las cuatro especies mediante test de análisis de la varianza (ANOVA), paramétricos o no paramétricos en función del tipo de distribución de datos. Finalmente, una vez analizadas las diferencias entre especies, se analizaron mediante el test de Pearson las posibles correlaciones entre las distintas variables fisiológicas estudiadas en las curvas de deshidratación de luz y de temperatura.

### 3. Resultados

#### 3.1 Vegetación

##### 3. 1.1 Presencia de especies del género *Usnea*

Las especies de líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* encontradas en el área de estudio fueron, por orden de mayor a menor abundancia, *U. aurantiaco-atra*, *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*, *U. acromelana*, *U. ushuaiensis*, y *U. antarctica* (**Tabla 1**). Las especies *U. trachycarpa* y *U. subantarctica* resultaron morfológicamente indistinguibles, y solo gracias a los estudios moleculares previos (presentados en el **Capítulo 1** de la presente tesis doctoral) se supo de la presencia de ambas. Es por ello que en adelante son tratadas de forma conjunta, bajo el nombre *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*. Otras especies de líquenes, musgos y plantas que formaban parte de las comunidades objeto de estudio se detallan en la **Tabla 2**.

Cuando se analizaron los porcentajes de cobertura de los principales grupos de vegetación estudiados (cojines y leñosas rastreras; gramíneas y otras herbáceas; briófitos; líquenes neuropogonoides; y otros macrolíquenes) se encontraron variaciones significativas, en líneas generales, en relación a la altitud y al tamaño de roca, pero no en relación a la pendiente del sustrato o a la mesotopografía. Las gramíneas y otras herbáceas eran muy poco abundantes y no mostraron ningún patrón significativo en el presente estudio. Las especies de líquenes neuropogonoides se analizaron, además de agrupadas como líquenes neuropogonoides, de otras dos formas: (1) cada especie por separado cuando eran suficientemente abundantes como para mostrar alguna tendencia (*U. aurantiaco-atra* y *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*); y (2) agrupadas en base a su anatomía mediante los subconjuntos de cordón axial grueso (*U. aurantiaco-atra*, *U. antarctica*, *U. acromelana*) y fino (*U. trachycarpa* / *U. subantarctica*, *U. ushuaiensis*). Las variaciones de cobertura en este caso se relacionaron principalmente con los factores de pendiente del sustrato y las categorías mesotopográficas, pero no con la altitud ni con el tamaño de roca.

**Tabla 1.** Porcentaje de cobertura (Media  $\pm$  Error Típico, N = 15) de las especies de líquenes neuropogonoides presentes en el área de estudio, ordenadas de mayor a menor abundancia.

Especie	Cobertura (%)
<i>Usnea aurantiaco - atra</i>	14.8 $\pm$ 2.2
<i>Usnea trachycarpa</i> / <i>Usnea subantarctica</i>	10.7 $\pm$ 1.7
<i>Usnea acromelana</i>	4.9 $\pm$ 0.6
<i>Usnea ushuaiensis</i>	2.6 $\pm$ 0.3
<i>Usnea antarctica</i>	0.7 $\pm$ 2.2

**Tabla 2.** Porcentaje de cobertura (Media  $\pm$  Error Típico, N = 15) de los principales grupos de vegetación presentes en las comunidades de tundra estudiadas, y taxones más representativos dentro de cada grupo (para líquenes se indicó el nombre específico, para briófitos y plantas vasculares el genérico).

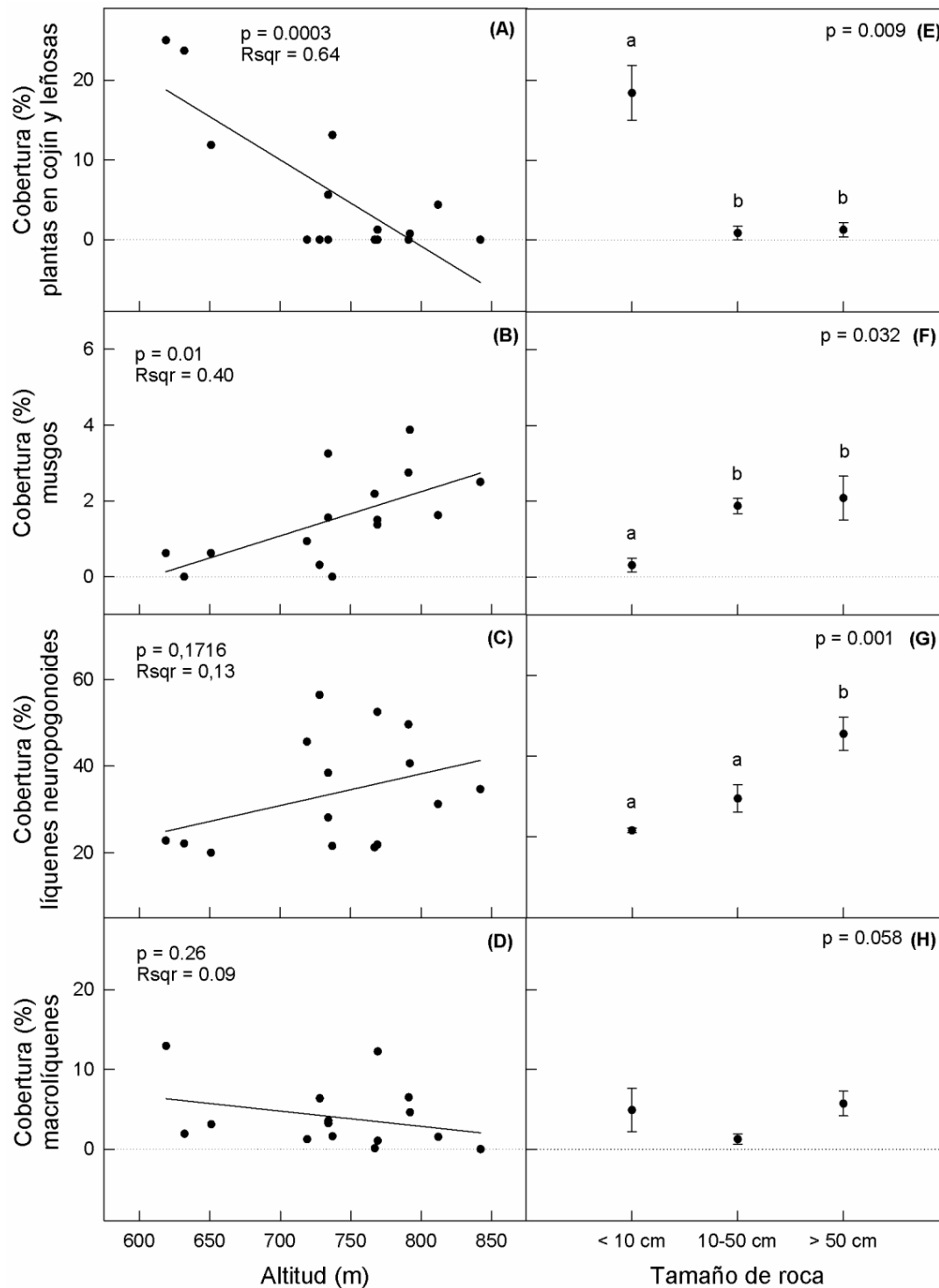
Tipo de vegetación	Cobertura (%)	Taxones mayoritarios
Leñosas pulviniformes (cojines) y leñosas rastreras	5.7 $\pm$ 2.2	<i>Azorella</i> <i>Bolax</i> <i>Empetrum</i>
Gramíneas y otras herbáceas	0.5 $\pm$ 0.3	<i>Festuca</i> <i>Nasauvia</i>
Briófitos	1.5 $\pm$ 0.3	<i>Andreaea</i> <i>Racomitrium</i>
Macrolíquenes del Género <i>Usnea</i> (grupo Neuropogon)	33.8 $\pm$ 3.3	<i>Usnea acromelana</i> <i>Usnea antarctica</i> <i>Usnea aurantiaco-atra</i> <i>Usnea subantarctica</i> <i>Usnea trachycarpa</i> <i>Usnea ushuaiensis</i>
Macrolíquenes de otros grupos	4.0 $\pm$ 1.0	<i>Alectoria nigricans</i> <i>Cetraria aculeata</i> , <i>Cetraria ericetorum</i> <i>Cetraria islándica</i> <i>Himantormia deusta</i> <i>Hypogymnia lugubris</i> <i>Pseudephebe pubescens</i> <i>Thamnolia vermicularis</i> <i>Usnea contexta</i>



### 3.1.2 Análisis de cobertura y variables ambientales

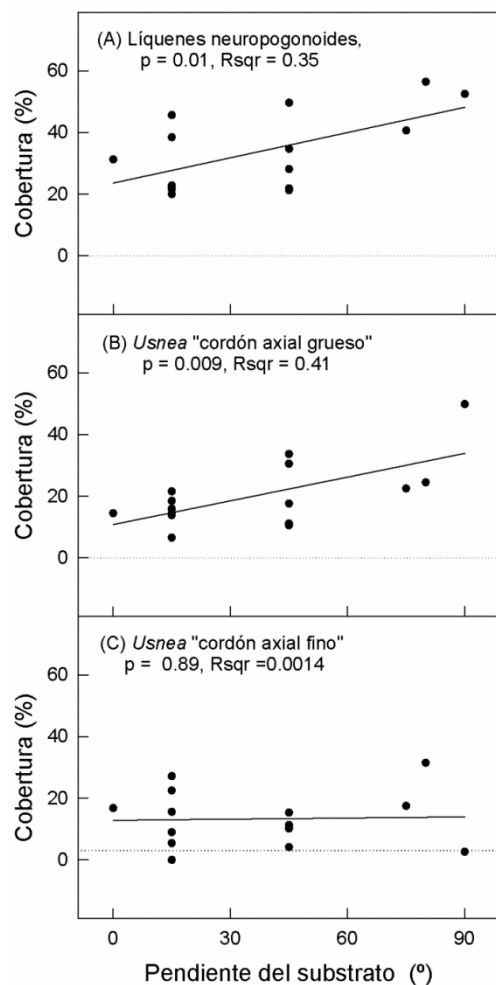
Cuando se analizaron los porcentajes de cobertura de los principales grupos de vegetación estudiados (cojines y leñosas rastreras; gramíneas y otras herbáceas; briófitos; líquenes neuropogonoides; y otros macrolíquenes) se encontraron variaciones significativas, en líneas generales, en relación a la altitud y al tamaño de roca, pero no en relación a la pendiente del sustrato o a la mesotopografía. Las gramíneas y otras herbáceas eran muy poco abundantes y no mostraron ningún patrón significativo en el presente estudio. Las especies de líquenes neuropogonoides se analizaron, además de agrupadas como líquenes neuropogonoides, de otras dos formas: (1) cada especie por separado cuando eran suficientemente abundantes como para mostrar alguna tendencia (*U. aurantiaco-atra* y *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*); y (2) agrupadas en base a su anatomía mediante los subconjuntos de cordón axial grueso (*U. aurantiaco-atra*, *U. antarctica*, *U. acromelana*) y fino (*U. trachycarpa* / *U. subantarctica*, *U. ushuaiensis*). Las variaciones de cobertura en este caso se relacionaron principalmente con los factores de pendiente del sustrato y las categorías mesotopográficas, pero no con la altitud ni con el tamaño de roca.

En primer lugar se detallan los principales resultados en relación a la altitud que se representaron en la **Figura 1, A-D**. Las plantas en cojín y leñosas mostraron una disminución significativa con la altitud ( $p = 0.0003$ ,  $Rsqr = 0.64$ ,  $N = 15$ , **Figura 1A**). Los musgos mostraron un aumento significativo con la altitud ( $p = 0.01$ ,  $Rsqr = 0.40$ ,  $N = 15$ , **Figura 1B**). Los líquenes neuropogonoides del género *Usnea* no variaron significativamente con la altitud ( $p = 0.17$ ,  $Rsqr = 0.13$ ,  $N = 15$ , **Figura 1C**); y el resto de macrolíquenes tampoco ( $p = 0.26$ ,  $Rsqr = 0.09$ ,  $N = 15$ , **Figura 1D**). En la misma figura se representaron los principales resultados en relación a las categorías de tamaño de roca (**Figura 1, E-H**), los cuales se detallan a continuación. Los cojines/leñosas mostraron una presencia significativamente mayor en sitios con rocas de tamaño pequeño ( $p = 0.009$ , *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*,  $H = 9.493$ ,  $g.l. = 2$ , **Figura 1E**). Los musgos por el contrario mostraron una presencia significativamente menor en rocas de tamaño pequeño ( $p = 0.032$ , *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*,  $H = 6.858$ ,  $g.l. = 2$ , **Figura 1F**). Los líquenes neuropogonoides mostraron una cobertura significativamente mayor ( $p = 0.001$ , *ANOVA*,  $\alpha = 0,05$ , **Figura 1G**) en rocas de tipo “bloque” (> 50 cm) respecto a las coberturas en zonas de detritos medianos y pequeños, siendo los valores medios ( $\pm$  Error Típico) de  $45.4 \pm 4.1 \%$ ,  $29.5 \pm 3.4 \%$ , y  $21.6 \pm 0.5 \%$  respectivamente. El resto de macrolíquenes no mostraron una variación significativa en relación al tamaño de roca ( $p = 0.058$ , *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*,  $H = 5.685$ ,  $g.l. = 2$ , **Figura 1H**).



**Figura 1.** Cobertura media (%) de los principales grupos de vegetación estudiados (plantas en cojín y leñosas; musgos; líquenes neuropogonoides; y otros macrolíquenes) frente a la altitud (m) y frente a las distintas categorías de tamaño de roca. En las gráficas de cobertura frente a altitud (figuras A-D) cada uno de los puntos representados es la media de cobertura de los distintos sitios estudiados ( $N = 15$ ), la línea continua representa la función lineal que mejor se ajustaba a la nube de puntos, y el valor de significación se corresponde con el análisis de correlación de Pearson. En las gráficas de cobertura frente a tamaño de roca (figuras E-H) se representa la cobertura media ( $\pm$  Error Típico) de las tres categorías estudiadas: < 10 cm ( $N = 4$ ); 10-50 cm ( $N = 5$ ); > 50 cm ( $N = 6$ ); y el p-valor obtenido mediante ANOVA, siendo significativamente distintas las categorías señaladas en cada caso con distintas letras (a, b).

Cuando se analizaron las variaciones de cobertura en relación a la pendiente del sustrato por grupos, tan solo los líquenes neuropogonoides mostraron una relación directa y significativa con la pendiente del sustrato ( $p = 0.01$ ,  $Rsq = 0.35$ ,  $N = 15$ , **Figura 2A**). El resto de grupos de vegetación (plantas en cojín y rastreras; briófitos; otros macrolíquenes) no mostraron ninguna relación significativa con la pendiente. Cuando se analizó la cobertura de líquenes del género *Usnea* agrupados en base a similitudes anatómicas (tipo de cordón axial y médula) se observó un aumento del conjunto de especies de eje grueso y médula compacta (*U. acromelana*, *U. antártica* y *U. aurantiaco-atra*) con la pendiente ( $p = 0.009$ ,  $Rsq = 0.41$ ,  $N = 15$ , **Figura 2B**). Esta tendencia no fue observada en el conjunto de especies de eje fino (*U. trachycarpa* / *U. subantarctica* y *U. ushuaiensis*), que mostraron una distribución más homogénea entre las distintas pendientes ( $p = 0.89$ ,  $Rsq = 0.0014$ ,  $N = 15$ , **Figura 2C**). Cuando se analizó la cobertura en relación a la pendiente de las distintas especies de *Usnea* por separado, tan solo *U. aurantiaco-atra* mostró un ligero incremento en las zonas de mayor pendiente ( $p = 0.04$ ,  $Rsq = 0.27$ ,  $N = 15$ ).



**Figura 2.** Cobertura media en porcentaje de (a) líquenes neuropogonoides, así como de los subconjuntos de (b) especies de *Usnea* de cordón axial grueso (*U. acromelana*, *U. antártica* y *U. aurantiaco-atra*) y (c) especies de *Usnea* de cordón axial fino (*U. trachycarpa*, *U. subantarctica*, *U. ushuaiensis*) frente a la pendiente (°). Cada uno de los puntos representados es la media de cobertura de los distintos sitios estudiados ( $N = 15$ ). Las líneas continuas representan la función lineal que mejor se ajustaba a la nube de puntos, y el valor de significación se corresponde con el análisis de correlación de Pearson.

Los principales resultados en relación a la mesotopografía se representan en la **Tabla 3**. La especie *U. aurantiaco-atra* mostró valores significativamente más altos ( $p = 0.028$ , *Student's t-test*,  $t = -2.474$ ,  $g.l. = 13$ ) con casi el doble de cobertura media ( $\pm$  Error Típico) en las crestas ( $19.4 \pm 2.9$  %) que en las planicies y laderas ( $11.7 \pm 2.1$  %). Sin embargo, el par *U. trachycarpa* / *U. subantarctica* mostro una distribución más homogénea, con coberturas medias similares entre el  $10.0 \pm 2.3$  % y el  $11.4 \pm 4.1$  % ( $p = 0.761$ , *Student's t-test*,  $t = -0.310$ ,  $g.l. = 13$ ). Análogamente, cuando las especies se agruparon en base a su anatomía, de nuevo las especies de cordón axial grueso resultaron ser más abundantes en las crestas ( $25.6 \pm 11.9$  %), que en planicies y laderas ( $15.7 \pm 8.2$  %) pero con un valor de significación superior a 0.05 ( $p = 0.083$ , *Student's t-test*,  $t = -1.878$ ,  $g.l. = 13$ ), mientras que las especies de cordón axial fino mostraron una distribución más homogénea, con coberturas medias similares de entre el  $13.0 \pm 2.3$  % y el  $13.5 \pm 4.4$  % ( $p = 0.914$ , *Student's t-test*,  $t = -0.110$ ,  $g.l. = 13$ ).

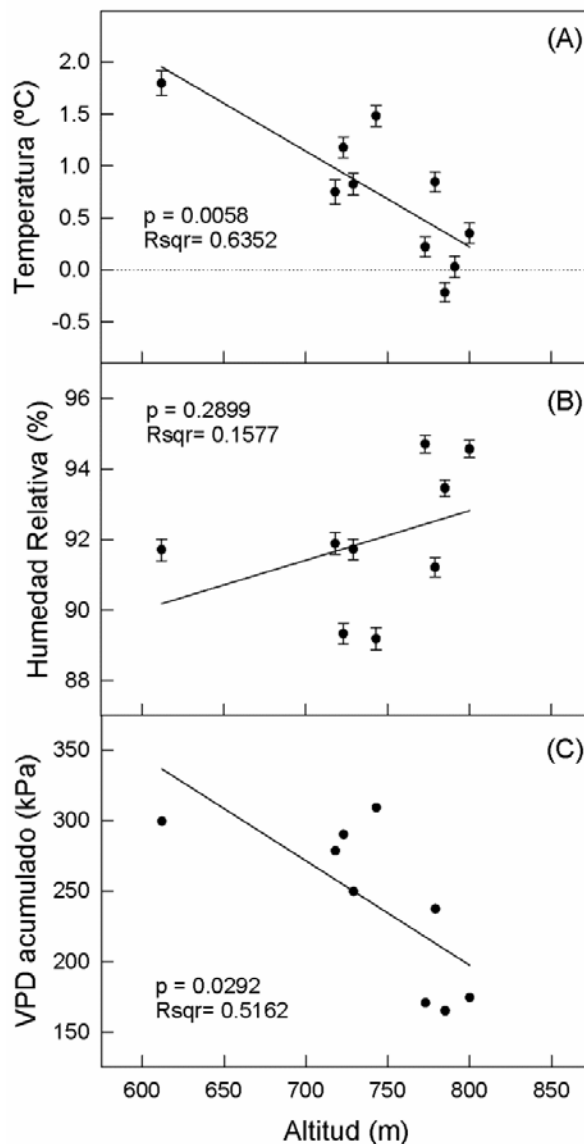
**Tabla 3.** Porcentaje de cobertura (Media  $\pm$  SD) de las especies mayoritarias de *Usnea* en relación a las categorías mesotopográficas de “Planicies y Laderas” (N = 8) y “Crestas” (N = 7); así como de los subconjuntos de especies de *Usnea* agrupadas en base al grosor de su cordón axial. . El asterisco (\*) señala los p-valores significativos. El resto de especies estudiadas, menos abundantes, no mostraron ninguna variación significativa

Cobertura Media (%)		Subunidades Mesotopográficas	
(a) Especies mayoritarias de <i>Usnea</i>	Planicies y Laderas	Crestas	t-test
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	$10.7 \pm 2.1$	$19.4 \pm 2.9$	$p = 0.028^*$
<i>U. trachycarpa</i> / <i>U. subantarctica</i>	$10.0 \pm 2.3$	$11.4 \pm 4.1$	$p = 0.761$
(b) Subconjuntos de <i>Usnea</i> estudiados	Planicies y Laderas	Crestas	t-test
Especies de cordón axial grueso	$15.7 \pm 2.9$	$25.6 \pm 4.5$	$p = 0.083$
Especies de cordón axial fino	$13.0 \pm 2.3$	$13.5 \pm 4.4$	$p = 0.914$

### 3.2 Microclima

A partir de los datos microclimáticos correspondientes al periodo de diez meses (322 días) estudiado, se calcularon los siguientes parámetros: el promedio de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ; N = 2060) y humedad relativa (%; N = 2060); el VPD acumulado (kPa; N = 2060); el número de días bajo nieve; y el número de días con déficit hídrico positivo. Posteriormente se analizaron las variaciones de estos parámetros entre los distintos sensores o sitios estudiados en relación a la altitud (**Figura 3**) y al tamaño de roca (**Tabla 4**). En la **Figura 3** se observa que la temperatura

media (°C) mostró una relación inversa con la altitud (Fig x. A,  $p = 0.0058$ ,  $Rsqr = 0.63$ ,  $N = 10$ ); que la humedad relativa (%) no mostró ninguna relación significativa en relación a la altitud (Fig x. B,  $p = 0.29$ ,  $Rsqr = 0.15$ ,  $N = 9$ ); y que el VPD acumulado también mostró una relación inversa con la altitud (Fig x. C,  $p = 0.029$ ,  $Rsqr = 0.51$ ,  $N = 9$ ). Por otro lado, en la **Tabla 4**, se observa una relación significativa entre el tipo de detrito y el número de días con déficit hídrico ( $p = 0.020$ ,  $t$ -test,  $t = -2.997$ ,  $g.l. = 7$ ), siendo las medias ( $\pm$  Error Típico) de días con VPD mayor que cero las siguientes:  $183 \pm 13$  para suelos con rocas pequeñas y  $236 \pm 10$  días en los bloques. También se observó un mayor número de días bajo nieve en suelos con detrito pequeño ( $120 \pm 14$ ) que en los bloques ( $77 \pm 9$ ), pero sin llegar a ser significativo al nivel deseado ( $p = 0.052$ ,  $t$ -test,  $t = 2.338$ ,  $g.l. = 7$ ).



**Figura 3.** Variaciones de temperatura media (°C), Humedad Relativa (%), y VPD acumulado (kPa) frente a la altitud en el área de estudio. En el caso de la Temperatura (A) y la Humedad Relativa (B), los círculos representan la media ( $\pm$  Error Típico) de los datos tomados cada tres horas por cada uno de los sensores iButton durante el periodo comprendido entre el 29/04/2012 y el 04/03/2012 ( $N = 2560$ ). En el caso del VPD acumulado (C) los círculos representan el sumatorio de valores calculados para el mismo periodo de unos 320 días. Las líneas continuas representan la función lineal que mejor se ajustaba a la nube de puntos, y el valor de significación se corresponde con el análisis de correlación de Pearson.

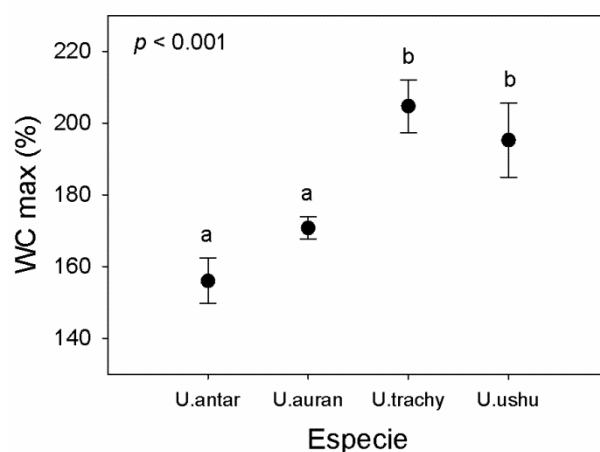
**Tabla 4.** Variaciones de la temperatura promedio (°C); de la humedad relativa promedio (%); del VPD acumulado (kPa); del número de días con déficit hídrico positivo (VPD > 0); y del número de días bajo nieve frente a las categorías de tamaño de roca estudiadas: piedras < 50 cm (N = 5); y bloques >50 cm (N = 4, excepto en el caso de temperatura que fue N = 5). La temperatura y la humedad relativa se calcularon, para cada uno de los sitios estudiados, promediando los datos tomados por cada uno de los sensores iButton durante el periodo comprendido entre el 29/04/2012 y el 04/03/2012. El VPD acumulado, los días con VPD > 0 y los días bajo nieve se calcularon para el mismo periodo.

	Tamaño de roca		Estadística
	Piedra < 50 cm	Bloque > 50 cm	
<b>Temperatura</b> (°C, Media ± SdErr)	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,3	Student's t-test; t = 0,292; gl = 8 ; P = 0,778
<b>Humedad Relativa</b> (%, Media ± SdErr)	92,9 ± 0,7	90,7 ± 1	Student's t-test; t = 1,765; gl = 7; P = 0,121
<b>VPD acumulado</b> (kPa, Mediana ± IQR)	249 ± 28	235 ± 29	Student's t-test; t = 0,345; gl = 7; P = 0,740
<b>Días con VPD &gt; 0</b> (Media ± SdErr)	183 ± 13	236 ± 10	Student's t-test; t = -2,997; gl = 7; P = 0,020
<b>Días bajo nieve</b> (Media ± SdErr)	120 ± 14	77 ± 9	Student's t-test; t = 2,338; gl = 7; P = 0,052

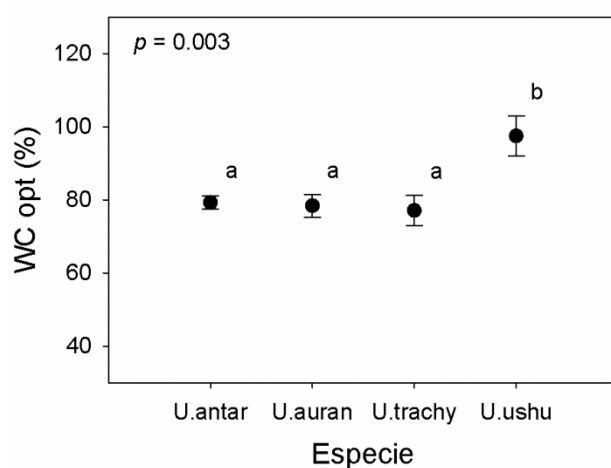
### 3.3 Respuesta fisiológica de *Usnea* bajo condiciones controladas de laboratorio

#### 3.3.1 Contenido hídrico máximo y óptimo

A partir de las curvas de deshidratación (**Figura C2 del ANEXO C**) se obtuvieron los valores de contenido hídrico máximo y óptimo para cada una de las especies estudiadas. El contenido hídrico máximo (Media ± Error Típico, **Figura 4**) resultó ser significativamente menor ( $p < 0.001$ , ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) en las especies *U. antarctica* ( $156 \pm 6$  %) y *U. aurantiaco-atra* ( $171 \pm 3$  %) que en las especies *U. trachycarpa* ( $205 \pm 7$  %) y *U. ushuaiensis* ( $195 \pm 10$  %). El contenido hídrico óptimo (Media ± Error Típico, **Figura 5**) resultó ser significativamente menor ( $p < 0.003$ , ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) en las especies *U. antarctica* ( $79 \pm 2$ ) y *U. aurantiaco-atra* ( $78 \pm 3$ ) y *U. trachycarpa* ( $77 \pm 4$ ) que en la especie *U. ushuaiensis* ( $97 \pm 5$ ).



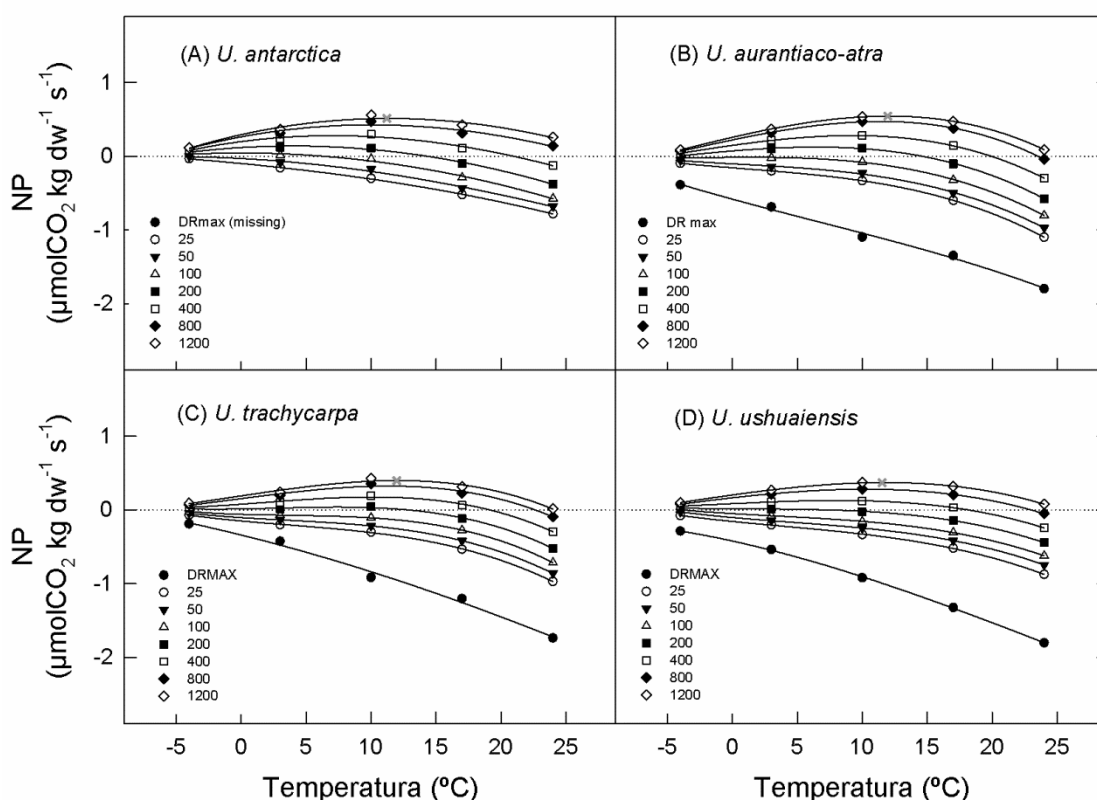
**Figura 4.** Valores medios de Contenido Hídrico Máximo (WCmax, %) para cada una de las cuatro especies de *Usnea* estudiadas (*U. antártica*, *U. aurantiaco-atra*, *U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*) y p-valor obtenido mediante ANOVA, siendo significativamente distintas las categorías señaladas con distintas letras (a, b). Los círculos representan las medias y las barras representan el Error Típico (N = 6 para UANT, N = 4 para el resto).



**Figura 5.** Valores medios de Óptimo Contenido Hídrico Óptimo (WC opt, %) para cada una de las cuatro especies de *Usnea* estudiadas (*U. antártica*, *U. aurantiaco-atra*, *U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*) y p-valor obtenido mediante ANOVA, siendo significativamente distintas las categorías señaladas con distintas letras (a, b). Los círculos representan las medias y las barras representan el Error Típico (N = 6 para UANT, N = 8 para el resto).

### 3.3.2 Respuesta fotosintética frente a la temperatura

A partir de las curvas de temperatura (**Figura 6**) se calcularon los óptimos de temperatura asociados a los máximos fotosintéticos (NP max) en cada una de las especies. Los óptimos de temperatura a 1200 PPFD oscilaron entre  $10.9 \pm 3.5$  y  $12.2 \pm 3.3$  °C (Media  $\pm$  Error Típico), pero no se observó ninguna diferencia significativa entre las distintas especies. Tampoco hubo diferencias significativas a niveles de luz inferiores (**Tabla 5**). Sí se encontraron diferencias significativas entre especies ( $p = 0.043$ , ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) para los valores de NPmax obtenidos a partir de las curvas de temperatura. Las especies *U. antarctica* y *U. aurantiaco-atra* mostraron valores (Mediana  $\pm$  IQR o Rango Intercuartílico) de NPmax mayores ( $0.48 \pm 0.03$  y  $0.49 \pm 0.39$   $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) que *U. ushuaiensis* y *U. trachycarpa* ( $0.36 \pm 0.21$  y  $0.34 \pm 0.09$   $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).



**Figura 6.** Respuesta de la fotosíntesis neta (NP;  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) frente a la temperatura (°C) y a distintos niveles de luz (entre 0 y 1200  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , que aparecen representados con distintos símbolos como se indica en la leyenda), para cada una de las especies estudiadas: (A) *U. antártica*, (B) *U. aurantiaco-atra*, (C) *U. trachycarpa* y (D) *U. ushuaiensis*. Los puntos representan el valor medio de fotosíntesis obtenido para cada combinación de luz y temperatura ( $N = 6$  para UANT,  $N = 8$  para el resto). Las líneas continuas representan la función que mejor se ajustaba, para cada nivel de luz, a los datos (función cúbica). La línea discontinua horizontal representa el punto de compensación de la fotosíntesis (FN = 0). La equis en color gris (X) señala el óptimo de temperatura a 1200 PPFD.

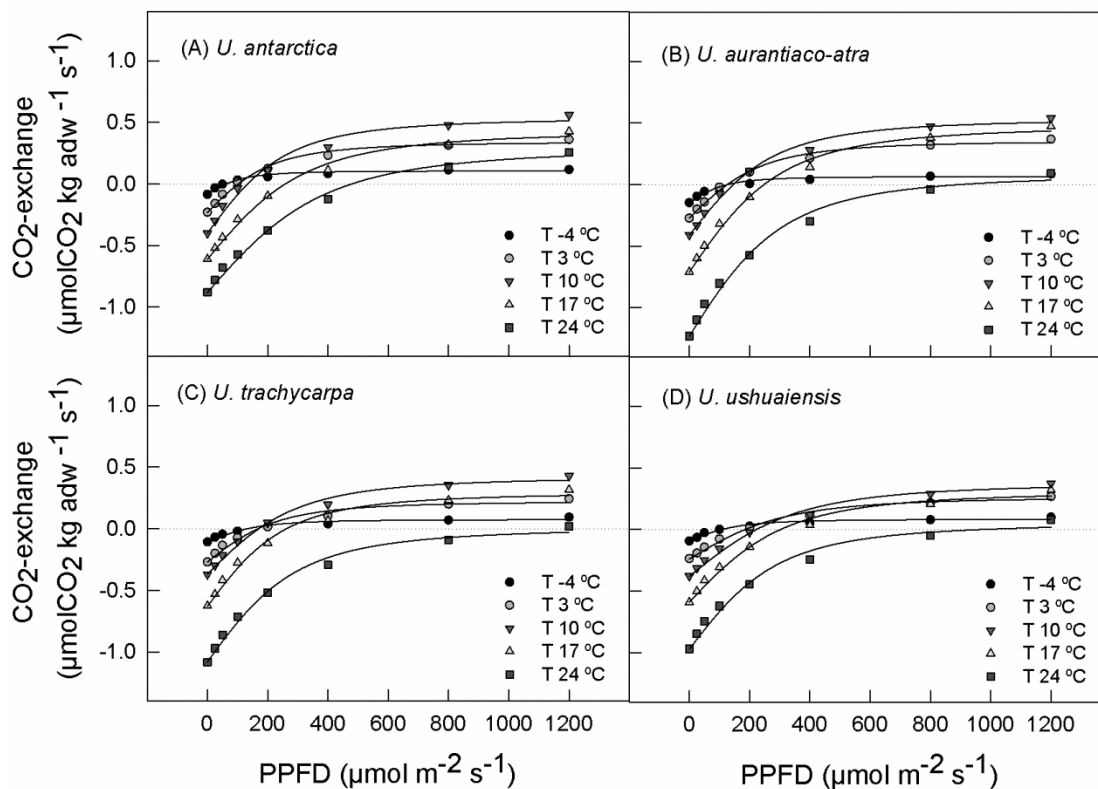


**Tabla 5.** Óptimos de temperatura ( $T_{opt}$ , °C) obtenidos a distintos niveles de luz por las distintas especies estudiadas (*U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*, *U. trachycarpa*, *U. ushuaiensis*) y valores de NPmax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) correspondientes al nivel de luz superior ( $1200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). El asterisco (\*) señala los p-valores significativos, y las letras (a, b) grupos significativamente distintos entre ellos para los análisis realizados (siendo N = 6 para *U. antarctica* y N = 8 para el resto de especies). Los datos de distribución normal se expresaron mediante Medias y su Error Típico correspondiente, mientras que los datos que no superaron los test de normalidad se expresaron mediante Medianas y su Rango Intercuantílico (IQR) correspondiente. Los p-valores se calcularon mediante ANOVA simple o mediante Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks (KW-ANOVA), de nuevo en función de si la distribución de los datos era normal o no respectivamente.

Nivel de luz (PPFD)	Óptimos de temperatura (°C) (Media $\pm$ Error Típico)			NPmax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) (Mediana $\pm$ IQR)
	400	800	1200	1200
<i>Usnea antarctica</i>	7.6 $\pm$ 1.0	10.0 $\pm$ 1.1	11.2 $\pm$ 1.1	0.48 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
<i>U. aurantiaco-atra</i>	8.6 $\pm$ 1.1	11.1 $\pm$ 0.1	12.2 $\pm$ 1.2	0.49 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>
<i>U. trachycarpa</i>	7.3 $\pm$ 2.1	11.0 $\pm$ 0.8	11.8 $\pm$ 0.5	0.34 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
<i>U. ushuaiensis</i>	8.2 $\pm$ 1.5	9.8 $\pm$ 1.4	10.9 $\pm$ 1.2	0.36 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
Test de análisis de la varianza	ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ) p = 0.93	ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ) p = 0.73	ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ) p = 0.82	KW-ANOVA (H = 8.369, gl = 3) p = 0.039*

### 3.3.3 Respiración y respuesta fotosintética frente a la luz

Cuando se ajustaron los valores de NP y DR de cada una de las especies estudiadas mediante la función de Smith, las curvas obtenidas mostraron la respuesta típica de saturación de la fotosíntesis con el aumento de luz (**Figura 7**). A partir de dicho ajuste se pudieron estimar los valores de PPFDcomp, PPFDsat, Amax correspondientes a cada especie y temperatura. Dichos parámetros se compararon entre especies, así como el resto de medidas de respiración (DRopt, DRmax) y estimaciones de fotosíntesis bruta (GPopt, GPmax). A continuación se comentan las principales diferencias observadas a 10 °C (**Tabla 6**), y para el resto de temperaturas (ver **Tablas de C3 - C9 del ANEXO C**).



**Figura 7.** Respuesta de la fotosíntesis neta (NP;  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) frente a la luz para cada una de las especies de *Usnea* estudiadas: (A) *U. antártica*, (B) *U. aurantiaco-atra*, (C) *U. trachycarpa* y (D) *U. ushuaiensis*. Los distintos símbolos representan la media de los valores medidos en cada especie para cada temperatura (entre los -4 y los 24 °C) como se indica en la leyenda, siendo N = 6 para *U. antártica*, N = 8 para el resto de especies estudiadas. Las líneas continuas representan la función de Smith ajustada a cada una de las temperaturas. La línea discontinua horizontal representa el punto de compensación de la fotosíntesis (donde FN = 0).

**Tabla 6.** Valores medios por especie de Punto de Compensación de luz (PPFDcomp), Punto de Saturación de luz (PPFDsat) y tasa de Fotosíntesis Neta máxima (Amax), obtenidos mediante los ajustes de Smith para a 10°C; valores medios por especie de respiración (DRopt) y fotosíntesis bruta (GPopt) estimados a 10° y en el óptimo de hidratación; y valores medios por especie de respiración (DRmax) y fotosíntesis bruta (GPmax) obtenidos a la misma temperatura pero en el máximo contenido hídrico. Los datos de distribución normal se expresaron mediante Medias y su Error Típico correspondiente, mientras que los datos que no superaron los test de normalidad se expresaron mediante Medianas y su Rango Intercuantílico (IQR) correspondiente. Los p-valores se calcularon mediante ANOVA simple o mediante Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks (KW-ANOVA), de nuevo en función de si la distribución de los datos era normal o no respectivamente.

Parámetros fotosintéticos	<i>Usnea antarctica</i>	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	<i>Usnea trachycarpa</i>	<i>Usnea ushuaiensis</i>	Test de análisis de la varianza
<b>PPFDcomp</b> (Mediana ± IQR)	136 ± 36	153 ± 35	166 ± 69	222 ± 83	KW-ANOVA on ranks (H = 7.728, gl = 3, p = 0.052)
<b>PPFDsat</b> (Media ± SdErr)	670 ± 73	711 ± 42	723 ± 45	823 ± 52	ANOVA (α = 0.05, p = 0.225)
<b>Amax</b> (Mediana ± IQR)	0.48 ± 0.12	0.44 ± 0.33	0.35 ± 0.15	0.36 ± 0.15	KW-ANOVA on ranks (H = 6.894, gl = 3, p = 0.075)
<b>DRopt</b> (Media ± SdErr)	-0.40 ± 0.04	-0.41 ± 0.04	-0.37 ± 0.05	-0.38 ± 0.02	ANOVA (α = 0.05, p = 0.906)
<b>GPopt</b> (Media ± SdErr)	0.92 ± 0.06	0.92 ± 0.09	0.78 ± 0.06	0.72 ± 0.04	ANOVA (α = 0.05, p = 0.107)
<b>DRmax</b> (Media ± SdErr)	-	-1.10 ± 0.23	-0.92 ± 0.21	-0.92 ± 0.08	ANOVA (α = 0.05, p = 0.793)
<b>GPmax</b> (Mediana ± IQR)	-	1.17 ± 0.59	1.46 ± 0.65	1.16 ± 0.39	KW-ANOVA on ranks (H = 2.000, gl = 2, p = 0.425)

Con respecto a los puntos de compensación de luz (PPFDcomp) a 10 °C se observó que la especie *U. ushuaiensis* tendía a mostrar valores de PPFDcomp más altos que el resto de especies, sin llegar a resultar significativamente distintos ( $p = 0.052$ , *Kruskall Wallis ANOVA on ranks*,  $H = 7.728$ ,  $gl = 3$ ) (**Tabla 6**). También se detectaron mayores PPFDcomp a 3 °C en esta especie, sin llegar a resultar significativamente distintos ( $p = 0.065$ , *Kruskall Wallis ANOVA on Ranks*,  $H = 7.217$ ,  $gl = 3$ ) en base a los siguientes valores (Mediana  $\pm$  IQR): *U. trachycarpa* ( $179 \pm 100 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), *U. ushuaiensis* ( $173 \pm 213$ ), *U. aurantiaco-atra* ( $127 \pm 105$ ) y *U. antarctica* ( $105 \pm 22$ ), ver **Tabla C3 del ANEXO C**.

Con respecto a los puntos de saturación de luz (PPFDsat) tan solo a 3 °C se encontraron diferencias significativas entre las especies *U. antarctica* y *U. ushuaiensis* ( $p = 0.048^*$ , ANOVA,  $\alpha = 0.050$ ), con unos valores de PPFDsat (Media  $\pm$  Error Típico) de:  $794 \pm 50 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (*U. ushuaiensis*),  $712 \pm 61$  (*U. trachycarpa*),  $644 \pm 57$  (*U. aurantiaco-atra*), y  $566 \pm 40 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (*U. antarctica*). Para el resto de temperaturas estudiadas no se observaron diferencias significativas de PPFDsat entre especies, ver **Tabla C4 del ANEXO C**.

La tasa de fotosíntesis neta máxima obtenida a partir de las curvas de luz (Amax), resultó ser similar entre especies a las temperaturas más bajas. Tan solo a 24 °C se observaron diferencias significativas en Amax (KW ANOVA on Ranks;  $H = 8,161$ ;  $gl = 3$ ;  $p = 0,043$ ), con valores superiores en *Usnea antarctica* ( $0,19 \pm 0,25 \mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) que en el resto de especies, *Usnea aurantiaco-atra*, *Usnea trachycarpa*, *Usnea ushuaiensis* (con valores de Amax  $-0,02 \pm 0,13$ ;  $-0,03 \pm 0,22$ ; y  $-0,01 \pm 0,21 \mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$  respectivamente), ver **Tabla C5 del ANEXO C**.

Con respecto a la respiración en el óptimo contenido hídrico (DRopt) solo se encontraron algunas diferencias significativas a -4 °C ( $p = 0.044$ , ANOVA,  $\alpha = 0.050$ ) con valores mayores de DRopt (Media  $\pm$  Error Típico,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) para *U. aurantiaco-atra* ( $-0,15 \pm 0,01$ ) que para las otras tres especies, *U. antártica* ( $-0,08 \pm 0,01$ ), *U. trachycarpa* ( $-0,10 \pm 0,01$ ) y *U. ushuaiensis* ( $-0,09 \pm 0,01$ ). No se encontró ninguna diferencia significativa entre el resto de temperaturas estudiadas entre 3 y 24 °C (ver **Tabla C6 del ANEXO C**). Con respecto a la respiración en el máximo contenido hídrico (DRmax) no se observó ninguna diferencia significativa a ninguna de las temperaturas estudiadas entre las especies estudiadas (ver **Tabla C7 del ANEXO C**). Tampoco se observaron diferencias significativas entre especies para la fotosíntesis bruta en el óptimo (GPopt) y máxima (GPmax), ver **Tablas C8 y C9 del ANEXO C**.

### 3.3.4 Correlaciones entre parámetros fisiológicos

Mediante el test de Pearson se analizaron las posibles correlaciones entre los parámetros de contenido hídrico (WCopt, WCmax) y otros parámetros (óptimos de temperatura, puntos de compensación y saturación de luz, tasas fotosintéticas y de respiración). En el caso de WCmax, se observaron correlaciones positivas significativas del mismo con las variables PPFDcomp ( $p = 0.018$ ,  $Rsqr = 0.38$ ) y PPFDsat ( $p = 0.008$ ,  $Rsqr = 0.45$ ), y una relación negativa significativa con la variable Amax del ajuste a 10 °C ( $p = 0.014$ ,  $Rsqr = 0.40$ ). Por otro lado, WCmax no mostró ninguna correlación significativa con los parámetros DRmax ( $p = 0.48$ ), DRopt ( $p = 0.95$ ), Topt ( $p = 0.21$ ), ni con el DW ( $p = 0.37$ ). En el caso de WCopt, no se observó ninguna correlación significativa con ninguno de los parámetros estudiados. Los valores de significación obtenidos mediante el test de correlación de Pearson para cada uno de los parámetros frente al WCopt fueron los siguientes: Amax ( $p=0.99$ ), DRopt ( $p=0.87$ ), DRmax ( $p=0.09$ ), PPFDcomp ( $p=0.45$ ), PPFDsat ( $p=0.26$ ), Topt ( $p=0.21$ ), ni con el DW ( $p=0.60$ ). Finalmente se observó una tendencia de WCopt a aumentar con el aumento de WCmax, pero no se correlacionaron significativamente ( $p = 0.08$ ,  $Rsqr = 0.23$ ).

## 4. Discusión

### Las comunidades de tundra criptogámica en la región altoandina fueguina de Isla Navarino.

Se estudiaron las comunidades de tundra dominadas por líquenes neuropogonoides del género *Usnea* presentes en la zona altoandina de Isla Navarino entre los 600 y 850m s.n.m.. Las comunidades estudiadas estaban principalmente compuestas por líquenes del grupo Neuropogon, que mostraron una cobertura media del 33.8 %, con variaciones entre el 20 y el 56 % para los distintos sitios estudiados. El resto de grupos de vegetación observados, con valores muy inferiores de abundancia, fueron: plantas en cojín y leñosas (de los géneros *Azorella*, *Bolax* y *Empetrum* principalmente) con un 5.7 % de cobertura media; macrolíquenes (de otros géneros como *Himantormia*, *Hypogymnia*, *Thamnolia*, *Pseudephebe* y *Cetraria*) que representaban un 4.0 % de la cobertura media; diversos briófitos (entre los que destacaron los musgos del género *Andreaea*) con tan solo un 1.5 % de cobertura media; y puntualmente, gramineas y otras herbáceas (de los géneros *Festuca* y *Nassauvia* entre otros). Estos elementos coinciden, en mayor o menor medida, con las descripciones de comunidades realizadas para la zona altoandina fueguina por diversos autores, que sin embargo, generalmente se centraron en las plantas vasculares. Por ejemplo, Pisano Valdés (1977) describe la “tundra montana

pulvinada” de Tierra del Fuego, representada principalmente por la asociación *Bolax gummifera* - *Azorella selago*, y asoció la presencia de estas comunidades en zonas alpinas con un aumento del drenaje por escurrimiento. Según el mismo autor, en zonas de precipitaciones abundantes estas comunidades ascenderían sobre sustratos rocosos, inclinados o de topografía accidentada, hasta el límite superior de la vegetación fanerogámica. Por otro lado, Tuhkanen (1992) habla de los “prados almohadillados” típicos de la zona altoandina fueguina, dominados por *Bolax gummifera*, junto con otras plantas de crecimiento almohadillado de los géneros *Abrotanella*, *Azorella*, o *Drapetes*, entre las que crece la leñosa rastrera *Empetrum rubrum*. Dicho autor asocia este tipo de crecimiento con la presencia casi constante de fuertes vientos, que podrían dificultar el desarrollo de la vegetación debido a daños en brotes y yemas. Con el aumento de la altitud y la exposición, estos prados se volverían más abiertos y empobrecidos, con cojines de menor extensión y volumen, y cada vez más dispersos hasta los 800m s.n.m. Luebert & Pliscoff 2006, en su sinopsis vegetacional de Chile, recogen estas formaciones vegetales bajo las denominaciones de “Matorral bajo templado-antiboreal andino de *Bolax gummifera* y *Azorella selago*” y “Herbazal antiboreal andino de *Nassauvia pygmaea* y *N. lagascae*”. Sin embargo, hasta la fecha no hay una descripción detallada de las comunidades de líquenes de la región altoandina fueguina. Redón & Quilhot (1977), en su estudio preliminar de la flora liquénica de Isla Navarino, identificaron en la zona alpina comunidades similares a la asociación “*Usnea fasciata*-*Alectoria spp*”, descrita por Lindsay (1974) para South Georgia y clasificada entre las “comunidades de hábitats saxícolas dominadas por líquenes crustáceos y fruticulosos de ambientes alpinos no enriquecidos en nutrientes y con grado variable de exposición”. Las laderas pedregosas y terrenos escarpados son frecuentes en áreas montañosas de Tierra del Fuego. A estas altitudes, la erosión por gelifracción (heladas) produce acumulaciones de rocas o detritos, que van desde arenas a fragmentos más gruesos. Tuhkanen (1992) señaló que estas zonas se caracterizan por comunidades densas de líquenes principalmente del género *Usnea*, acompañados por céspedes bajos (principalmente de los géneros *Deschampsia*, *Poa*, *Stipa*) y otras herbáceas (principalmente de los géneros *Nassauvia*, *Saxifraga*) en su transición hacia los “pastos almohadillados”.

Más recientemente, Mark *et al.* (2001) definieron dos zonas a nivel de mesoescala para la región alpina en el entorno de Ushuaia (Isla Grande de Tierra del Fuego), en base al análisis de componentes principales de la vegetación: la zona inferior, caracterizada por “prados almohadillados”; y la zona superior caracterizada por una cubierta vegetal relativamente dispersa entre los pedregales de rocas sueltas pero relativamente estables, generalmente colonizadas por líquenes fruticulosos. Las comunidades estudiadas en el presente trabajo en el

Cerro Bandera (Isla Navarino), entre los 600 y los 850 m s.n.m., se corresponden en gran medida con las comunidades de pedregales dominadas por líquenes (zona superior), pero también presentan en menor medida elementos de prado almohadillado (zona inferior), por lo que parece tratarse de una zona de transición. Brancaleoni *et al.* (2003) por su parte realizaron un estudio pormenorizado de la vegetación altoandina fueguina también entre los 600 y 850 m, pero en las proximidades de Ushuaia (Isla Grande de Tierra del Fuego). En dicho trabajo, analizó las variaciones de cobertura y riqueza en relación a las condiciones ambientales en cuatro categorías geomorfológicas típicas del ambiente periglacial (morrenas escarpadas, canchales o pedregales, derrubios de ladera, y lóbulos de gelifluxión). La zona de pedregales o canchales, caracterizada por la presencia de líquenes fruticulosos del grupo *Neuropogon* y por una baja cobertura de plantas vasculares, se pudo relacionar con una mayor presencia de bloques de piedra grandes y con un contenido hídrico del suelo bajo en relación a otras zonas. Brancaleoni *et al.* (2003) interpretaron dichas características como consecuencias de un drenaje rápido, de una exposición al viento elevada, de la falta de espacio para el establecimiento de plántulas y para el almacenaje de agua; y de la posible pobreza en nutrientes del entorno. Según los autores, los factores que mejor explicaban la distribución de las distintas comunidades propias del ambiente periglacial (prados almohadillados, tundra criptogámica, plantas saxícolas diseminadas) fueron: la textura del suelo (análoga a la variable “tamaño de roca” del presente trabajo), el contenido de agua del suelo, y la inclinación de la pendiente; mientras que la elevación tenía un bajo poder discriminatorio para la zona de estudio a la escala estudiada.

En el presente trabajo sin embargo, para un rango de elevación similar al de Brancaleoni *et al.* (2003), la altitud sí se pudo relacionar con cambios en la vegetación. Dentro de las comunidades estudiadas, se observó que la cobertura de las plantas en cojín y leñosas disminuía gradualmente con el aumento de la altitud, hasta encontrar su límite de distribución altitudinal en torno a los 800 m s.n.m. La cobertura de los líquenes, en contraste, no variaba con la altitud, y en el caso de los musgos, incluso incrementaba. Por otro lado, el tipo de sustrato tuvo distintos efectos en los distintos grupos: las plantas en cojín aumentaban en sustratos de piedras pequeñas (de diámetro < 10 cm); los musgos en piedras medianas (10 - 50 cm) y en bloques (> 50 cm); y los líquenes neuropogonoides también en bloques. Estas tendencias de la vegetación observadas en la zona altoandina fueguina de Cerro Bandera (Isla Navarino) se pudieron relacionar indirectamente con las condiciones microclimáticas de su entorno próximo, medidas a pocos cm del suelo para el periodo de cerca de un año estudiado. El aumento de la altitud, por ejemplo, se pudo relacionar, en las comunidades estudiadas, con

un descenso de 1° C de las temperaturas medias por cada 100 m de elevación. Esta disminución de temperatura podría explicar las limitaciones de desarrollo de las plantas en cojín y leñosas con la altitud, que encuentran su límite de distribución ahí donde la temperatura media (para el periodo de cerca de un año estudiado) es de cero grados. Dicha elevación prácticamente coincidió con el límite altitudinal superior de las comunidades de plantas vasculares propuesto por la mayoría de autores para la región (850 m), aunque algunos señalan que hasta los 1250 m s.n.m. pueden aparecer plantas vasculares dispersas (Mark *et al.* 2001, Brancaloni *et al.* 2003). Por otro lado, las rocas de mayor tamaño (tipo bloque) se relacionaron con un mayor déficit hídrico (días con VPD > 0) y con un menor número de días bajo la cubierta nival. Por tanto, la disminución de cobertura de musgos y líquenes observada en sustratos relativamente más finos o fragmentados se podría deber a factores como una mayor competencia por parte de las plantas vasculares; un exceso de disponibilidad hídrica; a con una mayor acumulación de nieve. Todos factores (o combinaciones de los mismos) podrían estar limitando el desarrollo de las criptógamas, que encontrarían sus condiciones óptimas de desarrollo en los bloques (menor competencia por parte de plantas vasculares, menor cobertura nival) sin sufrir las posibles limitaciones de un mayor déficit hídrico gracias a su estrategia poiquilohídrica.

### Los líquenes neuropogonoides del género *Usnea* y sus relaciones con el microclima

En la zona de estudio se encontraron seis especies de líquenes neuropogonoides, que en orden de mayor a menor abundancia eran: *U. aurantiaco-atra* (14.8 %), *U. trachycarpa* / *U. subantarctica* (10.7 %), *U. acromelana* (4.9 %), *U. ushuaiensis* (2.6 %), y *U. antarctica* (0.7 %). El estatus taxonómico de algunas de estas especies ha sido cuestionado por estudios filogenéticos recientes de Wirtz y colaboradores, por lo que a continuación se especifican los criterios considerados al respecto en el presente capítulo. En el caso de *U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica*, se trata de dos especies molecularmente indistinguibles (Wirtz *et al.* 2012) que se diferencian principalmente por su modo de reproducción (lo que se denomina comúnmente un par de especies), pero según la clasificación vigente se consideran dos taxones distintos, por lo que en el presente trabajo se les trata como tales. Por otro lado, las especies *U. trachycarpa* y *U. subantarctica* a pesar de formar dos linajes filogenéticos, actualmente no se pueden distinguir en base a caracteres morfológicos (Wirtz *et al.* 2012). Su presencia en similar proporción se comprobó para la zona de estudio en base a datos moleculares (como se detalla en el **Capítulo I**), por lo que a lo largo del presente trabajo se denominan bajo el nombre



combinado de *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*, respetando la nomenclatura vigente mientras no se sinonimizen.

A nivel específico apenas se observaron variaciones de cobertura en relación a las condiciones ambientales a la escala estudiada. Sin embargo, cuando las especies se agruparon en base el tipo de cordón axial sí se observaron algunos patrones diferenciados, principalmente en relación a la pendiente. Las especies encontradas se podrían clasificar en dos tipos morfológicos fundamentales: especies de cordón axial grueso (*U. aurantiaco-atra*, *U. acromelana*, *U. antarctica*) y especies de cordón axial más o menos fino (*U. trachycarpa* / *U. subantarctica*, *U. ushuaiensis*). Las especies de cordón axial grueso mostraron un claro aumento con la pendiente del sustrato, mientras que las especies de cordón axial fino mostraron una distribución más homogénea entre los distintos grados de pendiente. Los análisis del microclima a este respecto mostraron que los sitios verticales (que en el presente trabajos se correspondieron con los sustratos de tipo bloque) se caracterizaban por una menor acumulación de nieve y con un mayor déficit hídrico que los sitios horizontales (que se correspondieron con piedras de menor tamaño). Es de esperar que estas dos variables estén interrelacionadas, ya que la nieve supone una fuente de hidratación para los líquenes como se detalla más adelante, por lo que sitios con menor cobertura nival tendrán un mayor déficit hídrico, y viceversa.

Diversos estudios han relacionado la distribución de los líquenes del grupo Neuropogon con las variaciones de acumulación de nieve. Mark *et al.* (2001), en su descripción de la vegetación altoandina fueguina, señala cómo los líquenes fruticulosos del género *Usnea* colonizan los pedregales relativamente estables de la zona superior, excepto en las depresiones de acumulación de nieve. Vieira *et al.* 2014, profundizó en el estudio de los patrones de quionofobia de los líquenes neuropogonoides, es decir, en su comportamiento de evitación o aversión hacia la nieve, mediante el análisis comparativo de mapas de acumulación de nieve y de mapas de distribución de los líquenes del género *Usnea* en la Península Fildes (Isla Rey Jorge, Archipiélago Shetland del Sur, Antártida Marítima). Concluyó que las formaciones de líquenes neuropogonoides muestran una distribución espacial que refleja esencialmente el efecto de la cobertura nival, y que la distribución de *Usnea* y los sitios libres de nieve coinciden. Sin embargo, nuestros resultados revelan que no todas las especies de líquenes neuropogonoides tienen el mismo comportamiento frente a la acumulación de nieve y la disponibilidad hídrica. Estudios en otros líquenes alpinos (como *Alectoria ochroleuca*, *Cetraria nivalis*, *C. delisei*, *C. mitis*, *Flavocetraria nivalis*, *Lecidea atrobrunnea*, *Rhizocarpon riparium*,

*Umbilicaria virginis*, *Xanthoria elegans*, *Xanthoparmelia lineola*, *X. decipiens*) confirmaron que distintas especies muestran distintos niveles de tolerancia ante la acumulación de nieve (Benedict 1990a, 1990b, y 1991; Sommerkorn 2000; Bidussi *et al.* 2016), por lo que investigaciones en este sentido serían de gran interés de cara a evaluar los efectos de posibles cambios ambientales sobre las distintas especies alpinas de *Usnea*. Por otro lado, la intolerancia a la acumulación de nieve, podría estar estrechamente relacionada con una evitación del encharcamiento. Distintos niveles de tolerancia al encharcamiento por acumulación de nieve han sido descritos en líquenes alpinos (Bidussi *et al.* 2016), por lo que en el caso de *Usnea* este también sería un factor destacado a tener en cuenta. En el caso de nuestros resultados, una menor acumulación de nieve se vio claramente acompañada por un mayor déficit hídrico, que serían a su vez los ambientes preferidos por *U. aurantiaco-atra*.

Por otro lado, se observó un efecto a nivel específico de la mesotopografía. La especie mayoritaria, *U. aurantiaco-atra* aumentaba en las crestas, mientras que la siguiente especie más abundante, la combinación de *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*, de nuevo se distribuía de forma homogénea entre las distintas categorías mesotopográficas (planicies, laderas y crestas). El resto de especies, dada su escasa presencia, no mostraron patrones significativos. Kappen (2000) señala que en los ambientes alpinos, las crestas, riscos, aristas, y colinas son intensamente barridos por el viento, y defiende que la fuerte fijación del talo al sustrato o el robusto cordón axial en los talos de *Usnea* son obvias adaptaciones para resistir el viento. Nuestros resultados, en concordancia con esto, muestran que la especie preferentemente asociada a ambientes de crestas, *U. aurantiaco-atra*, se caracteriza por un cordón axial particularmente grueso. Por otro lado, Øvstedal & Smith (2001), en su revisión de la flora antártica, ya señalaron la preferencia de *U. aurantiaco-atra* por hábitats muy expuestos y relativamente secos. Las distintas categorías mesotopográficas, sin embargo, no se pudieron caracterizar desde el punto de vista microclimático, aunque las zonas de crestas podrían efectivamente relacionarse con mayores intensidades de viento, en base a lo observado durante varias campañas de muestreo.

## Respuesta fotosintética y respiratoria de los líquenes neuropogonoides del género *Usnea*

En los estudios bajo condiciones controladas de laboratorio, la respuesta fotosintética de *Usnea* respecto a luz y temperatura en la zona de estudio resultó ser muy homogénea, salvo excepciones puntuales que se detallan a continuación. Las cuatro especies estudiadas mostraron óptimos de temperatura muy similares entre ellos (entorno a los 11 - 12 °C bajo condiciones de luz de 1200  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y similares a los observados para *Usnea* la Antártida Marítima (Laguna-Defior *et al.* 2015). A su vez se correspondieron con los valores de óptimos de temperatura típicos de líquenes de latitudes elevadas (Lechowicz 1982). Generalmente, las especies estudiadas (y *U. ushuaiensis* en particular) mostraron un comportamiento fotófilo, con puntos de compensación y saturación de luz elevados, en torno a los 136-222 y a los 670-823  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  respectivamente. Valores elevados de puntos de compensación y saturación de luz son típicos de líquenes alpinos (Coxon & Kershaw 1983). Si bien la radiación no necesariamente aumenta con la altitud (Körner 1999), el grado de exposición a la misma sí se ve incrementado con la disminución de la vegetación arbustiva y arbórea. Líquenes neuropogonoides de la Antártida Marítima y Continental de las especies *U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*, y *U. sphacelata* (por aquel entonces denominadas como *N. acromelanus*, *U. fasciata* y *U. sulphurea* respectivamente) también mostraron puntos de compensación y saturación de luz elevados (Kappen 1985, Lange & Kappen 1972).

La tasa de fotosíntesis neta máxima (NPmax) alcanzada por las cuatro especies estudiadas fueron generalmente bajas, y en ningún caso superaron los 0.5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ . Cuando se compararon entre especies, las tasas de fotosíntesis neta (NPmax) alcanzadas en el óptimo de temperatura, se observó que las de *U. antarctica* y *U. aurantiaco-atra* ( $0.48 \pm 0.03$  y  $0.49 \pm 0.39 \mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$  respectivamente) eran mayores (KW ANOVA;  $H = 8.369$ ,  $gl = 3$ ;  $p = 0.039$ ) que las de *U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis* ( $0.34 \pm 0.09$  y  $0.36 \pm 0.21 \mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$  respectivamente). Dichas tasas resultaron de nuevo muy similares a las estimadas mediante los mismos procedimientos para líquenes del mismo género en la Antártida Marítima, presentadas en el **Capítulo 2** de la presente tesis doctoral (y en Laguna-Defior *et al.* 2015). Kappen y colaboradores analizaron la respuesta fotosintética de varias especies de líquenes neuropogonoides en la Antártida Marítima (Kappen 1985, Kappen *et al.* 1987; Schroeter *et al.* 1995) y Continental (Lange & Kappen 1972, Kappen 1983, Kappen 1989), como son *U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*, y *U. sphacelata*. Los valores de fotosíntesis neta que observaron mediante diversos estudios de campo y de laboratorio oscilaban entre los 0.4 y los 1.8  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ . Otros autores, como Harrison & Rothery (1988) también estimaron valores

dentro de este rango para *U. antártica* y *U. aurantiaco-atra* en la Antártida Marítima. El hecho de que algunos de estos trabajos muestren tasas relativamente superiores a nuestros resultados, se podría atribuir a las diferencias metodológicas a la hora de la selección y tratamiento de las muestras, ya que en dichos trabajos incluyen resultados individuales de especímenes seleccionados, y no valores promedio de poblaciones mayores, como es el caso del presente trabajo.

También se observaron diferencias significativas en las tasas respiratorias medidas a  $-4^{\circ}\text{C}$ . Aunque son tasas de respiración relativamente bajas en todos los casos, para *U. aurantiaco-atra* son significativamente mayores ( $-0.15 \mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) que para el resto de especies (entre los  $-0.08$  y los  $-0.10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). Por tanto, si condiciones de bajas temperaturas y de luz limitada se dieran durante periodos prolongados en los que los líquenes estuvieran activos bajo nieve, las distintas tasas de respiración podrían suponer diferencias en el balance de carbono de estos líquenes. La nieve es posiblemente la principal fuente de hidratación y nutrientes en líquenes neuropogonoides en la Antártida Marítima (Crittenden 1998). Se ha comprobado que la luz que atraviesa una capa de nieve de hasta 15 cm sería suficiente para un balance fotosintético positivo de *U. sphacelata* en verano en la Antártida Continental (Kappen 1990). Sin embargo, la nieve puede llegar a ser un factor limitante en estos ambientes, si llegara a impedir el paso de la luz (Kappen & Breuer 1991). En la Antártida Marítima, se estimó que el balance de carbono de *U. aurantiaco-atra* sería negativo durante el invierno, cuando el aporte lumínico es menor (Schroeter *et al.* 1995). Estas pérdidas se compensarían en base a una mayor productividad en otros periodos del año (lo cual sería posible en base a las mayores tasas de NPmax ya señaladas). Localidades menos venteadas y por tanto con una mayor acumulación de nieve, podrían acentuar la falta de luz y dicho balance negativo, lo que sumado a una mayor tasa respiratoria a bajas temperaturas, podría comprometer la supervivencia de esta especie en zonas menos venteadas.

Las relaciones entre cobertura nival, respiración y supervivencia han sido investigadas en regiones tanto antárticas como alpinas. Bokhorst *et al.* (2015) comprobaron mediante un experimento con cámaras de manipulación climática (OTCs) en Signy Island (Islas Orcadas del Sur, Antártida Marítima) que el incremento de acumulación de nieve durante la época invernal provocaba una disminución drástica de cobertura de *Usnea antártica*. Las condiciones en los dispositivos de manipulación climática (OTCs) fueron: un aumento de la temperatura media invernal de  $1^{\circ}\text{C}$ ; una disminución del 80 % de la luz incidente; y una disminución de los ciclos de congelación y descongelación. Los autores interpretan estas condiciones como un mayor

aislamiento debido al incremento de la acumulación de nieve invernal, que según Kappen (2000) podría relacionarse con pérdidas de productividad de estos líquenes debido a un aumento de la respiración invernal. Por otro lado, ya en regiones alpinas, Benedict (1990a) observó un aumento de mortandad de líquenes crustáceos del género *Rhizocarpon* bajo mayores acumulaciones de nieve, lo que atribuyó al agotamiento de las reservas de carbono. El autor señala que durante la primavera tardía y en verano el agua de fusión de nieve estaba constantemente disponible en la base de la cobertura nival pero la luz todavía era insignificante. Estas condiciones, como ya se ha expuesto, provocaría una activación de los líquenes que comenzarían a respirar, pero sin posibilidad de realizar la fotosíntesis, lo que a la larga podría resultar en un balance de carbono negativo. Este tipo de resultados se alinean con nuestra observación de que las tasas respiratorias observadas a bajas temperaturas jueguen un papel importante en la selección de hábitat y supervivencia de las distintas especies de líquenes neuropogonoides de la región altoandina de Tierra del Fuego. Sería interesante en este caso evaluar los posibles efectos del encharcamiento por acumulación de nieve.

El resto de diferencias observadas se relacionaron con el contenido hídrico y con los puntos de compensación y saturación de luz de las distintas especies. Con respecto al contenido hídrico máximo, las dos especies de cordón axial fino (*U. trachycarpa*, *U. ushuaiensis*) mostraron valores ligeramente superiores que las especies de cordón axial grueso (*U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*), lo que se traduciría en una mayor capacidad de acumulación de agua. El cordón axial fino, generalmente se asocia una médula laxa y amplia. La médula de los líquenes, generalmente, no va a ser el lugar donde se acumule el agua, dado que la disponibilidad de aire entorno a la capa algal es un requisito necesario para que las algas puedan realizar la fotosíntesis (Valladares *et al.* 1998). Sin embargo, un mayor grosor de médula se ha relacionado con mayor capacidad de acumulación de agua en *Ramalina* (Pintado *et al.* 1997). Por tanto, es posible que una médula laxa y amplia permita, aunque sea de manera indirecta, una mayor retención de agua. Por otro lado, como ya se ha señalado en el análisis de distribución de especies frente al microclima, *U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis* son posiblemente más tolerantes frente acumulaciones de nieve que *U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*. Estas especies dispondrían por tanto de un periodo de crecimiento más corto, el verano, en el que por otro lado las nevadas son menos frecuentes (Körner 1999). En el periodo estival sin embargo, las nieblas podrían ser una alternativa factible para la hidratación, como se pudo observar a lo largo de varias campañas de muestreo. En líquenes neuropogonoides, la hidratación a partir de agua vaporizada no es tan efectiva como a partir de agua líquida (Kappen 1985) como sería la procedente de fusión de nieve. Una mayor capacidad de

acumulación de agua sería por tanto ventajosa en verano. Por otro lado, *U. ushuaiensis* también mostró valores de contenido hídrico óptimo y una tendencia a mostrar puntos de compensación superiores al resto, lo que de nuevo podría estar indicando que dicha especie se active en momentos de mayor intensidad lumínica y mayor disponibilidad hídrica (y por tanto libres de nieve).

En conclusión, en las cuatro especies estudiadas se observaron dos estrategias: por un lado, las especies de cordón axial grueso (*U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*), ligeramente más productivas, dominan en localidades más expuestas y secas, con mayores periodos de crecimiento pero que requieren una mayor inversión estructural, en lo que parece una estrategia “especialista”; y por otro lado, las especies de cordón axial fino (*U. trachycarpa*, *U. ushuaiensis*), serían más tolerantes a la acumulación de nieve mediante el aprovechamiento de los recursos estivales, mostrando una estrategia más “generalista” frente a la hidratación y una tolerancia al exceso de disponibilidad hídrica ligeramente superior. Estudios del comportamiento de las distintas especies de líquenes Neuropogonoides en otras localidades de Tierra del Fuego serán necesarios para confirmar las tendencias observadas. En este sentido cabe señalar que, las tasas de crecimiento observadas en *U. antarctica*, la contraparte asexual del par de *U. aurantiaco-atra*, en Sygny Island (Archipiélago de las Islas Orcadas, Antártida Marítima) variaron en función de la edad de los individuos, siendo mayores en talos juveniles (50-200 mg gdw<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup>), que en talos adultos (40 mg gdw<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup>) y que en los viejos (1-5 mg gdw<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup>), (Hooker 1980). Es decir, talos de mayor edad muestran mayor biomasa pero menor productividad, lo que concuerda con una acumulación progresiva de estructuras de resistencia.



## Capítulo IV

**Análisis comparativo entre comunidades de tundra criptogámica antártica y subantártica: vegetación, microclima y monitorización a largo plazo de la especie clave *Usnea aurantiaco-atra*.**





## 1. Introducción

Los líquenes son organismos poiquilohídricos, que en condiciones de deshidratación se inactivan. Este estado de latencia les permite soportar las condiciones extremas de sequía, frío o calor, y radiación de ambientes tan dispares como las de los desiertos cálidos (Kappen 1988; Lange 1994), de las regiones polares o alpinas (Green 2009), e incluso del espacio exterior (Sancho *et al.* 2007b; Raggio *et al.* 2011). En contrapartida, una inactividad prolongada limita su productividad (Sancho *et al.* 2007a). Por otro lado, como consecuencia de la poiquilohidria, las condiciones en las que estos organismos llevan a cabo procesos metabólicos fundamentales como la fotosíntesis, no necesariamente son representativos de las condiciones climáticas típicas de su entorno. En este contexto, los estudios de monitorización a largo plazo de los periodos de actividad fotosintética y de las condiciones microclimáticas, están desvelando cada vez más información sobre cuáles son las condiciones en las que los líquenes están activos. Este tipo de trabajos se basan en medidas de fluorescencia de la clorofila, como se detalla en la Metodología General. Fueron aplicados por primera vez en la Antártida por (Schroeter 1991). En la última década, ésta técnica se ha consolidado, aplicándose con éxito en diversas ocasiones tanto en la Antártida Marítima (Schroeter *et al.* 2000; Schlenzog *et al.* 2013), como en la Antártida Continental (Hovenden *et al.* 1994; Kappen *et al.* 1998a; Pannewitz *et al.* 2003; 2006; Schroeter *et al.* 2011) o en ambas simultáneamente (Schroeter *et al.* 2010; Raggio *et al.* 2016). La mayoría de los resultados apuntan a que el clima antártico podría favorecer o limitar el desarrollo de la vegetación criptogámica no tanto de forma directa a través de la temperatura, sino más bien a través de la duración de los periodos de actividad.

Las relaciones entre la activación de los líquenes y el microclima son complejas, y varían entre las distintas regiones climáticas del mundo (Kappen 1988) y entre las distintas regiones de la Antártida (Kappen 2000; Green 2009; Green *et al.* 2011). Por ejemplo, una radiación elevada, que generalmente implica la desecación y la inactivación de los líquenes en desiertos cálidos (Kappen 1988), puede suponer, en contraste, una fuente de hidratación en el desierto helado de la Antártida Continental por la fusión de la nieve o el hielo (Schroeter *et al.* 2010). Así mismo, la misma nieve, que en ocasiones proporciona la justa disponibilidad hídrica para la activación, podría reducir la disponibilidad de luz hasta el punto de provocar un balance de carbono negativo (Kappen & Breuer 1991; Schroeter *et al.* 1995). Es decir, distintas combinaciones de los mismos factores ambientales (temperatura, humedad, radiación)

pueden afectar sutilmente al desarrollo y supervivencia de la vegetación criptogámica antártica. Determinar las relaciones entre dichos factores y los periodos de actividad es por tanto un paso necesario para comprender el comportamiento de los líquenes en cada región.

Diversos autores han señalado la disponibilidad hídrica, que operaría a través del control de los periodos de actividad, como un elemento clave a la hora de comprender el funcionamiento de los ecosistemas terrestres antárticos. Los principales cambios observados en la vegetación con el aumento de la latitud (disminución de la diversidad, biomasa y tasas de crecimiento) se relacionaron con este factor (Green *et al.* 2011). Algunos estudios de monitorización llegaron a conclusiones similares (Schroeter *et al.* 2010; Schlensoeg *et al.* 2013). En el presente trabajo se analiza el efecto de distintos factores sobre la actividad de *U. aurantiaco-atra*, incluyendo por primera vez el estudio simultáneo y a largo plazo de la disponibilidad hídrica, además de la temperatura y la radiación. La monitorización, llevada a cabo durante varios años en ambas localidades simultáneamente, incluye datos sobre los periodos de actividad e inactividad del liquen estudiado, así como de las condiciones micro (en el entorno próximo del liquen) y mesoclimáticas (del aire a 1.5 m de altura) durante dichos periodos.

*Usnea aurantiaco-atra* es una especie clave en las comunidades de tundra criptogámica antártica y subantártica. Con frecuencia domina la vegetación en ambientes saxícolas y de clima polar en el Hemisferio Sur (Walker 1985). La ecología de esta especie en la Antártida marítima ya ha sido abordada en varias ocasiones (Valladares & Sancho 2000, Pintado *et al.* 2001; Laguna-Defior *et al.* 2015). También se analizó el comportamiento fisiológico de esta especie en la misma región (Kappen 1985; Kappen *et al.* 1987; Kappen & Redón 1987; Harrisson & Rothery 1988; Baralinova *et al.* 2014). Sin embargo, se sabe poco del comportamiento de *U. aurantiaco-atra* en las regiones subantárticas. En el presente trabajo se utiliza *Usnea aurantiaco-atra* como un organismo modelo que nos permita comprender el funcionamiento de los ecosistemas terrestres australes de clima polar, mediante el análisis comparativo de las comunidades de tundra criptogámica de Isla Livingston (Islas Shetland del Sur) e Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile). Las características de los líquenes neuropogonoides; la relevancia de las comunidades de tundra a las que pertenecen; las similitudes florísticas entre Antártida Marítima y Tierra del Fuego; y el interés del estudio de gradientes latitudinales en el contexto del calentamiento global; son aspectos que ya se desarrollaron en la **Introducción General**.

En capítulos anteriores, cada una de las comunidades de tundra estudiadas (antártica y subantártica) se han caracterizado mediante el estudio de la vegetación, del microclima y del comportamiento fotosintético de algunos de sus elementos clave bajo condiciones controladas de laboratorio (**Capítulos II y III**). De este modo se obtuvo una amplia base de datos, que en el presente trabajo se utilizó para comparar ambas regiones y para interpretar los resultados de la monitorización realizada sobre *Usnea aurantiaco-atra*. El propósito principal era avanzar en el conocimiento de cuáles son las relaciones entre clima y vegetación en las comunidades de tundra estudiadas, mediante el análisis comparativo de todos estos elementos. Para ello se plantearon los siguientes objetivos concretos:

- 1) Comparar las variaciones de cobertura entre localidades de los principales elementos de vegetación, para las comunidades de tundra antártica y subantártica estudiadas.
- 2) Comparar entre localidades las condiciones microclimáticas promedio observadas en las comunidades de tundra estudiadas.
- 3) Comparar el comportamiento fotosintético y respiratorio bajo condiciones controladas de laboratorio entre especímenes de *Usnea aurantiaco-atra* procedentes de las distintas regiones estudiadas
- 4) Cuantificar y comparar los periodos de actividad de la especie clave *U. aurantiaco-atra* en las comunidades de tundra antártica y subantártica estudiadas; así como las condiciones microclimáticas durante dichos periodos de actividad.

## 2. Material y Métodos

En el presente capítulo se analizan las comunidades de tundra antártica y subantártica de Isla Livingston e Isla Navarino mediante: (1) el análisis comparativo de los datos de vegetación y microclima; (2) el análisis comparativo de la respuesta fisiológica bajo condiciones controladas de las dos especies de *Usnea* comunes a ambas localidades, *U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica*; y (3) la monitorización a largo plazo del liquen *Usnea aurantiaco-atra*, dominante en dichas comunidades de tundra.

**Tabla 1.** Síntesis de las principales características de las dos zonas de estudio, Isla Livingston e Isla Navarino, desde el punto de vista geográfico, geológico, climático y biológico. Para más detalles ver la Metodología General.

Localidad	Isla Livingston (Archipiélago Islas Shetland del Sur)		Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile)	
Coordenadas	62°39'S, 60°23'W		55°10'S, 67°03'W	
Geología del área de estudio	Rocas sedimentarias (esquistos y depósitos turbídicos) pertenecientes a la formación de Miers Bluff.	Smellie et al 1984	Rocas sedimentarias (esquistos de grado metamórfico bajo, con presencia de intrusiones plutónicas) pertenecientes a la formación Yaghan.	Olivero & Martinioni 2001
Clima	Tundra Polar (según la clasificación climática mundial de Köppen-Geiger)	Peel et al. 2007	Tundra Polar (según la clasificación climática mundial de Köppen-Geiger)	Peel et al. 2007
Clasificación biogeográfica	Provincia Norte de la Región de la Antártida Marítima. Clima es frío húmedo oceánico.	Peat et al. 2007	Reino Austral, Región Andina, Subregión Subantártica, Provincias del Bosque Magallánico y del Páramo Magallánico.	Morrone 2002
Clasificación bioclimática	Provincia biogeográfica de las Islas Antárticas Atlánticas, bioclima Polar Hiperocéánico	Rivas-Martínez 2011	Provincia biogeográfica Austro-magallánica Boreal, bioclima Boreal Hiperocéánico	Rivas-Martínez 2011
Estación Meteorológica más cercana	Estación Meteorológica de la Base Antártica Española J. Carlos I (BAE JCI; Isla Livingston, 12 masl)		Estación Meteorológica de Puerto Williams (EMPW; Isla Navarino, 8 masl).	
Temperatura media anual (maT)	-1.3 °C (Datos BAE JCI; 1994-2000)	Bañón 2001 & 2013	6.0 °C (Datos EMPW)	Luebert & Plischoff 2006
Temperatura media del mes más cálido (wmT)	2.4 °C (Datos BAE JCI; 1994-2000)	Bañón 2001 & 2013	9.4 °C (Datos EMPW)	Luebert & Plischoff 2006
Temperatura media del mes más frío (cmT)	-5.6 °C (Datos BAE JCI; 1994-2000)	Bañón 2001 & 2013	2.2 °C (Datos EMPW)	Luebert & Plischoff 2006
Temperatura positiva anual (Tp)	7 décimas de °C (Datos BAE JCI; 1994-2000)	Bañón 2001 & 2013	722 décimas de °C (Datos EMPW)	Luebert & Plischoff 2006
Cobertura media anual de nubes	80 % (Datos BAE JCI; 1994-2000)	Bañón 2001 & 2013	70% (Datos EMPW)	(Tuhkanen 1992)
Precipitación media anual (maP)	500 mm basado (datos Estac. Meteo. Isla Rey Jorge)	Ramos et al. 2009	448 mm (Datos EMPW)	Luebert & Plischoff 2011
Frecuencia de innivación	Precipitación generalmente es en forma de nieve, durante el verano también las lluvias son frecuentes	Turner 1997	En las elevaciones, precipitaciones con frecuencia en forma de nieve, incluso en el verano	(Méndez et al. 2013)

## 2.1 Descripción breve del área de estudio

En la **Tabla 1** se destacan las principales características macroclimáticas y biogeográficas de las dos localidades de estudio, Isla Livingston e Isla Navarino. Para más detalles sobre clima, vegetación, geografía y geología de ambas localidades, consultar la Metodología General.

## 2.2 Análisis comparativo de vegetación y microclima

Los detalles metodológicos sobre los estudios de cobertura de vegetación y microclima en Isla Livingston e Isla Navarino consultar los **Capítulos II y III** respectivamente. En el caso de la vegetación, se compararon los valores de cobertura de los principales grupos de vegetación observados (plantas vasculares; briófitos; líquenes del género *Usnea*; y otros macrolíquenes) y de las distintas especies de *Usnea* encontradas. Para el análisis comparativo del microclima, se dispuso de 9 sensores iButton instalados a lo largo de un gradiente altitudinal de 200 m en cada una de las dos localidades estudiadas. Se obtuvo un periodo de cerca de diez meses de registro simultáneo de datos en ambas localidades, comprendido entre el 23/04/2012 y el 15/02/2013. A partir de ellos se calcularon: temperatura media (°C); humedad relativa media (%); déficit hídrico acumulado (kPa); número de días bajo nieve; y número de días con VPD > 0; tal y como se indica en los **Capítulos II y III**.

## 2.3 Análisis comparativo del intercambio gaseoso en dos especies de *Usnea*

En el presente capítulo, el propósito de los estudios de intercambio gaseoso era comparar el comportamiento de una misma especie entre las dos localidades estudiadas. Las dos especies de *Usnea* comunes a ambas localidades eran: *U. antártica* y *U. aurantiaco-atra*. Aunque los estudios de monitorización se centraron en la especie más abundante, *U. aurantiaco-atra*, en el caso del intercambio gaseoso se analizaron ambas especies. Se comparó, para cada una de ellas, la respuesta fotosintética y respiratoria bajo condiciones controladas de humedad, luz y temperatura, sobre ejemplares procedentes de las distintas localidades estudiadas. Para ello se utilizaron los datos de los estudios de intercambio gaseoso obtenidos para estas especies en capítulos anteriores. El protocolo de laboratorio aplicado se puede consultar la metodología de los **Capítulos II y III**, para Livingston y Navarino respectivamente, y los detalles sobre los fundamentos del intercambio gaseoso se pueden consultar en la Metodología General.

## 2.4 Monitorización a largo plazo de los periodos de actividad de *U. aurantiaco-atra*

A principios de 2012 se instaló en cada una de las localidades del presente estudio una estación de monitorización de periodos de actividad en líquenes y de las condiciones ambientales asociadas: la estación de Isla Livingston (ubicada en 62°39'S; 60°23'W; y a 8 m s.n.m.) y la estación de Isla Navarino (ubicada en 54°58'S; 67°37'W; y a 723 m s.n.m.). El principal componente de la estación era un sistema MoniDA (Walz®, Alemania). Este sistema permite el registro a largo plazo de los periodos de actividad e inactividad en líquenes, en base al mecanismo de disipación de energía por fluorescencia del fotosistema II (Raggio *et al.* 2016). Para más detalles sobre los fundamentos de las técnicas de monitorización de actividad en líquenes mediante el dispositivo MoniDA se puede consultar la **Metodología General**. Además del MoniDA, cada estación contaba con un data-logger Squirrel (Grant Instruments®, Reino Unido) para el registro de las condiciones ambientales de temperatura, humedad y luz en el entorno muy próximo del liquen (microclima) y del aire a 1.5 m de altura (mesoclima).

Los datos de actividad (MoniDA) se recibían “on line” a lo largo del año (vía satélite) y los de condiciones ambientales de microclima y mesoclima (Squirrel) se descargaron puntualmente una vez concluidos los periodos anuales de 2012, 2013 y 2014. Como se detalla más adelante, el registro en 2013 falló, por lo que finalmente solo se analizaron los años 2012 y 2014. Los sistemas de medida de actividad (MoniDA) y de condiciones ambientales (Squirrel) se sincronizaron de tal modo que cada media hora realizaban un registro simultáneo. De este modo pudimos conocer mediante los datos de sincronizados del data-logger Squirrel las condiciones ambientales correspondientes a cada medida de actividad o inactividad: humedad relativa en el entorno próximo del liquen (RH liq, %) y del aire a 1.5 m (RH air, %), la temperatura en el entorno próximo del liquen (T liq, °C) y del aire a 1.5 m (T air, °C), y la luz incidente en el entorno próximo del liquen (PAR liq,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Se consideraron microclima T liq y RH liq; y se consideraron mesoclima T air y RH air.

Para cada uno de los periodos anuales registrados (2012, 2013 y 2014) se revisó la base de datos sincronizada, día por día. Se contrastaron las bases de datos procedentes de ambas localidades y se seleccionaron aquellos periodos en los que hubiera datos de actividad simultáneos para Livingston y Navarino. El uso de tecnología remota sobre este tipo de liquen fruticulosos conlleva que ocasionalmente la fibra deje de captar la señal de actividad si el talo

se mueva ligeramente. Por ello en cada estación se procedió a la monitorización de dos especímenes de *U. aurantiaco-atra*, por lo que si ocasionalmente alguna de ellas fallaba, siempre se pudo contar con al menos un espécimen monitorizado para cada localidad y periodo. De éste modo se obtuvieron registros de actividad casi continuos para los años 2012 y 2014, con la excepción del periodo invernal (entre el 15 de junio y el 30 de agosto) y los últimos meses previos a las tareas de mantenimiento (enero y febrero de 2012, enero de 2014). En conjunto se pudieron aprovechar 16.5 meses de registros de actividad y condiciones ambientales simultáneos en ambas localidades. El año 2013 se descartó por completo dado que, por problemas técnicos (fallo de alimentación), apenas hubo registros de datos de actividad.

A partir los periodos seleccionados, se calcularon los porcentajes de actividad de *U. aurantiaco-atra* para los periodos mensuales, anuales y para el periodo total de 16.5 meses (seleccionados de 2012 y 2014), en base a la siguiente fórmula: [Periodo de actividad (%) = (tiempo en que los talos estaban activos / tiempo total)\*100]. Se consideraron valores de actividad todos aquellos registros de Yield > 0. Por otro lado, para cada uno de dichos periodos se determinó, en base a los datos de Yield y de PAR, qué porcentaje de la actividad ocurrió bajo condiciones de luz (PAR > 0) o bajo condiciones de oscuridad (PAR = 0); y partir de dichos porcentajes se calculó el ratio luz/oscuridad, que se expresaron como porcentajes en relación al periodo de actividad. A partir de los datos del data-logger Squirrel, se calcularon los valores promedio para los periodos mensuales y el periodo total (16.5 meses) de las distintas variables ambientales estudiadas (T liq; T air; RH liq; RH air; y PAR). Por último, se calcularon los valores promedio de las mismas variables durante los periodos en los que el líquen monitorizado, *U. aurantiaco-atra*, estaba activo, obteniendo lo que en adelante se denominará “condiciones en actividad”.

## 2.5 Análisis de datos

Todos los análisis estadísticos y gráficas del presente capítulo se realizaron con los programas SigmaPlot® 10.0 y Statgraphics® XVI Centurion. Principalmente se realizaron comparaciones entre localidades. Los datos de cobertura se compararon mediante análisis de tipo t-test para cada uno de los grupos de vegetación estudiados (plantas vasculares; briófitos; líquenes del género *Usnea*; y otros macrolíquenes) y para las especies comunes a ambas localidades (*U. antártica* y *U. aurantiaco-atra*). Los datos microclimáticos obtenidos a partir de data-loggers



de tipo iButton (temperatura media, °C; humedad relativa media, %; VPD acumulado, kPa; número de días bajo nieve; y número de días con VPD > 0) se representaron mediante regresiones y se compararon entre localidades mediante análisis de Student's t-test. La respuesta fotosintética y respiratoria medida para cada una de las dos especies de líquen estudiadas (*U. aurantiaco-atra* y *U. antarctica*) bajo condiciones controladas de laboratorio, se comparó entre localidades mediante t-test o el test no paramétrico correspondiente (Mann Whitney Rank Sum Test). Los distintos parámetros que se compararon fueron: WCmax; WCopt; NPmax; PPFDcomp; PPFDsat; Amax; DRopt; y DRmax. Los datos de actividad y las condiciones de microclima y mesoclima asociadas se compararon entre localidades mediante porcentajes y medias mensuales, anuales y totales, y se correlacionaron entre ellos mediante regresiones lineales.

### 3. Resultados

#### 3.1 Variaciones de la cobertura de vegetación

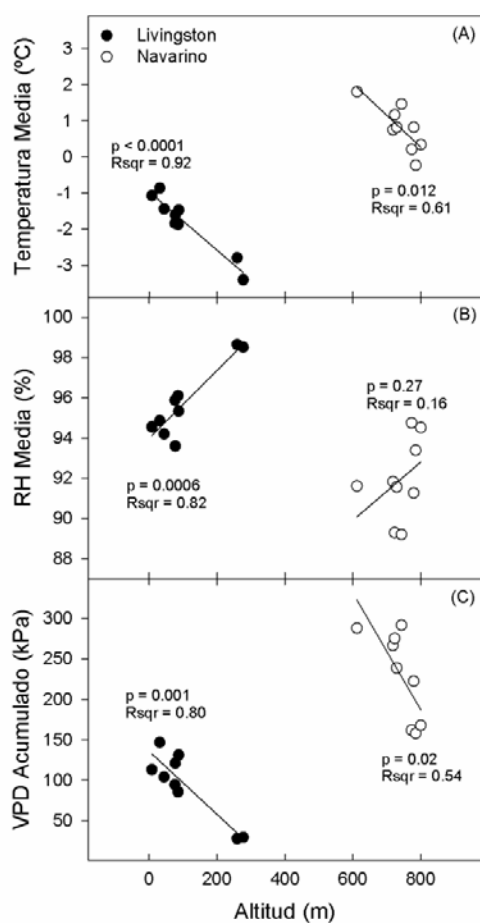
La mayoría de grupos de vegetación de las comunidades de tundra estudiadas mostraron valores significativamente distintos de cobertura (%; Media  $\pm$  Error Típico) entre localidades (**Tabla 2**). Las plantas vasculares resultaron ser más abundantes ( $p < 0.001$ ) en las comunidades de Navarino ( $6.2 \pm 2.2$ ) que en las de Livingston ( $0.6 \pm 0.6$ ). Los briófitos por el contrario resultaron ser más abundantes ( $p = 0.007$ ) en las comunidades Livingston ( $7.5 \pm 1.6$ ) que en las de Navarino ( $1.5 \pm 0.3$ ). Los líquenes neuropogonoides del género *Usnea* resultaron ser más abundantes ( $p < 0.001$ ) en las comunidades Livingston ( $65.3 \pm 4.4$ ) que en las de Navarino ( $33.8 \pm 3.3$ ); y el resto de macrolíquenes no mostraron variaciones significativas ( $p = 0.196$ ). Dos de las especies de *Usnea* observadas en las comunidades de tundra altoandina de Isla Livingston (*U. antarctica*; *U. aurantiaco-atra*) también se observaron en Isla Navarino (ver **Capítulo I**). Cuando se analizó la abundancia de las dos especies comunes a ambas localidades, en ambos casos se observaron variaciones significativas de cobertura entre localidades (**Tabla 2**). *U. aurantiaco-atra* mostró valores de cobertura mayores ( $p < 0.001$ ) en Livingston ( $51.1 \pm 6.7$ ) que en Navarino ( $14.8 \pm 2.0$ ). Análogamente, aunque con menores abundancias que la especie anterior, *U. antarctica* mostró valores de cobertura mayores ( $p = 0.046$ ) en Livingston ( $14.2 \pm 5.6$ ) que en Navarino ( $0.7 \pm 0.3$ ).

**Tabla 2.** Cobertura media (%; Media  $\pm$  Error Típico) y detalles de la comparación estadística entre localidades para los distintos grupos de vegetación observados en Livingston (N =18) y en Navarino (N = 15); así como de las dos especies de *Usnea* presentes en ambas localidades.

Categorías de vegetación	Cobertura (%)		
Grupos funcionales	Livingston	Navarino	Detalle estadística
Plantas Vasculares	0.6 $\pm$ 0.6	6.2 $\pm$ 2.2	Mann-Whitney Rank Summ test; U = 53.5; T = 336.5; P < 0.001
Briófitos	7.5 $\pm$ 1.6	1.5 $\pm$ 0.3	Mann-Whitney Rank Summ test; U = 60; T = 180; P = 0.007
Líquenes del género <i>Usnea</i>	65.3 $\pm$ 4.4	33.8 $\pm$ 3.3	Student's t-test; t = 5.508; gl = 31; P < 0.001
Otros macro-líquenes	4.3 $\pm$ 1.8	4.0 $\pm$ 1.0	Mann-Whitney Rank Summ test; U = 99; T = 291; P = 0.196
Especies de <i>Usnea</i>	Livingston	Navarino	
<i>U. antarctica</i>	14.2 $\pm$ 5.6	0.7 $\pm$ 0.3	Mann-Whitney Rank Summ test; U = 84; T = 204; P = 0.046
<i>U. aurantiaco-atra</i>	51.1 $\pm$ 6.7	14.8 $\pm$ 2.0	Mann-Whitney Rank Summ test; U = 36; T = 156; P < 0.001

### 3.2 Caracterización microclimática de las comunidades

El microclima se pudo registrar de forma simultánea en nueve puntos de cada una de las localidades mediante data-loggers iButton para un periodo de 10 meses. La temperatura mínima del periodo estudiado osciló, a lo largo del gradiente altitudinal estudiado, entre -18 y -13.5 °C en Livingston, y entre -10.6 y -8.5 °C en Navarino; y las temperaturas máximas oscilaron entre 14.1 y 29.5 °C y entre 28.1 y 37.1 °C respectivamente. Cuando se representaron de forma conjunta los valores promedio de temperatura, humedad relativa, y de VPD acumulado para cada uno de los puntos estudiados, se observó que los rangos microclimáticos de las distintas localidades, Livingston y Navarino, no solapaban (**Figura 1**). Cuando se compararon los valores promedio entre localidades, se observaron variaciones significativas para todas las variables estudiadas (**Tabla 3**). La temperatura (°C, Media  $\pm$  SdErr) resultó ser menor ( $p < 0.001$ ) en Livingston (-1.8  $\pm$  0.3) que en Navarino (0.8  $\pm$  0.2). El déficit hídrico, estimado como VPD acumulado (kPa, Mediana  $\pm$  IQR), también resultó ser menor en Livingston (104  $\pm$  51) que en Navarino (238  $\pm$  112). Cuando se expresó como días con VPD > 0 (Media  $\pm$  SdErr), el déficit hídrico también resultó ser menor en Livingston (119  $\pm$  18) que en Navarino (188  $\pm$  11). La humedad relativa (%; Media  $\pm$  SdErr) por el contrario resultó ser mayor ( $p < 0.001$ ) en Livingston (95.7  $\pm$  0.6) que en Navarino (91.9  $\pm$  0.7); y el número de días bajo nieve (Media  $\pm$  SdErr) también fue mayor en Livingston (149  $\pm$  16) que en Navarino (93  $\pm$  10).



**Figura 1.** Valores medios de temperatura (°C, A), humedad relativa (% B) y de VPD acumulado (kPa, C) obtenidos a lo largo de los respectivos gradientes altitudinales estudiados en Livingston (símbolos negros) y Navarino (símbolos blancos). Cada una de las medias se calculó para el periodo comprendido entre el 23/04/2012 y el 15/02/2013, a partir de los datos registrados simultáneamente por cada uno de los 9 sensores iButton en cada una de las dos localidades estudiadas.

**Tabla 3.** Temperatura media (°C); humedad relativa media (%); VPD acumulado (kPa); número de días bajo con déficit hídrico positivo (VPD > 0); y número de días bajo nieve estimados para cada una de las localidades (Isla Livingston e Isla Navarino); y detalles de la estadística resultante de la comparación entre ambas. Los distintos parámetros se calcularon a partir de los datos registrados simultáneamente durante el periodo comprendido entre el 23/04/2012 y el 15/02/2013 por cada uno de los 9 sensores iButton en cada una de las dos localidades estudiadas.

	Livingston	Navarino	Estadística
Temperatura (°C, Media ± SdErr)	-1.8 ± 0.3	0.8 ± 0.2	Student's t-test; t = -7.622; g.l. = 16; p < 0.001
Humedad Relativa (% Media ± SdErr)	95.7 ± 0.6	91.9 ± 0.7	Student's t-test; t = 4.265; gl = 16; p < 0.001
VPD acumulado (kPa, Mediana ± IQR)	104 ± 51	238 ± 112	MW Rank Sum Test; U = 0; T = 45; p < 0.001
Días con VPD > 0 (Media ± SdErr)	119 ± 18	188 ± 11	Student's t-test; t = -3.236; gl = 16; p = 0.005
Días bajo nieve (Media ± SdErr)	149 ± 16	93 ± 10	Student's t-test; t = 2.958; gl = 16; p = 0.009

### 3.3 Respuesta fisiológica de *Usnea* bajo condiciones controladas de laboratorio

*U. aurantiaco-atra* no mostró diferencias significativas entre localidades, a ninguna de las temperaturas estudiadas entre los -4 °C y los 24 °C, para la mayor parte de los parámetros fisiológicos estudiados (**Tablas D1 – D6; ANEXO D**). No mostraron ninguna diferencia significativa: WCmax, WCopt, NPmax, Topt, (**Tabla D1**); PPFDcomp (**Tabla D2**); PPFDsat (**Tabla D3**); Amax (**Tabla D4**); y DRmax (**Tabla D5**). Tan solo la respiración en el óptimo de hidratación (**DRopt, Tabla D6**) resultó significativamente distinta entre localidades a - 4 °C, siendo mayor (Student's t-test;  $t = 2.625$ ;  $gl = 14$ ;  $p = 0.020$ ) en los especímenes procedentes de Navarino ( $-0.15 \pm 0.01$ ) que en los de Livingston ( $-0.11 \pm 0.01$ ).

*U. antarctica* tampoco mostró diferencias significativas entre localidades, a ninguna de las temperaturas estudiadas entre los -4 °C y los 24 °C, para la mayor parte de los parámetros fisiológicos estudiados (**Tablas D7 – D11; ANEXO D**). No mostraron ninguna diferencia significativa: WCmax, WCopt, NPmax, Topt, (**Tabla D7**); PPFDcomp (**Tabla D8**); PPFDsat (**Tabla D9**); ni Amax (**Tabla D10**). De nuevo, tan solo DRopt (**Tabla D11**), resultó ser significativamente distinta entre localidades, en este caso a 17 °C y 24 °C, como se detalla a continuación. La DRopt medida a 17 °C resultó ser mayor (Student's t-test;  $t = -2.453$ ;  $gl = 12$ ;  $p = 0.030$ ) en Livingston ( $-0.92 \pm 0.10$ ) que en Navarino ( $-0.61 \pm 0.07$ ); y la DRopt medida a 24 °C, también resultó ser mayor (Student's t-test;  $t = -3.075$ ;  $gl = 12$ ;  $p = 0.010$ ) en Livingston ( $-1.64 \pm 0.20$ ) que en Navarino ( $-0.88 \pm 0.09$ ).

Estos resultados se basaron en el análisis comparativo de ejemplares de Isla Livingston y Navarino. Para más detalles sobre los distintos parámetros obtenidos en cada una de las localidades, se pueden consultar los capítulos II y III respectivamente.

### 3.4 Periodos de actividad de *Usnea aurantiaco-atra* en Livingston y Navarino

En la **Tabla 4** se muestran los valores de actividad (%) observados para los periodos totales estudiados, junto con algunas referencias. El porcentaje de actividad observado en Isla Livingston para el líquen *U. aurantiaco-atra* durante el periodo total seleccionado (16.5 meses de 2012 y 2014) fue del 71.9 %, frente a un 28.1 % de inactividad. El porcentaje de actividad observado para la misma especie en Isla Navarino para el mismo periodo y especie fue del 42.9

%, frente a un 57.1 % de inactividad. El ratio de actividad luz/oscuridad para el periodo total estudiado fue superior en Livingston (49 / 51) que en Navarino (30 / 70). En la **Tabla 5** se pueden observar las variaciones interanuales de la actividad. Los periodos de actividad (%) de *U. aurantiaco-atra* para los años 2012 y 2014 en Livingston fue del 55.0 % y del 87.9 % cada año respectivamente; y en Navarino fue del 57.9 % y de 29.3 % cada año respectivamente. En el año 2012, el ratio luz/oscuridad fue superior en Livingston (44 / 56) que en Navarino (33 / 67); y en 2014, de nuevo el ratio fue superior en Livingston (51 / 49) que en Navarino (25 / 75). Por otro lado, las variaciones estacionales fueron más marcadas en Navarino que en Livingston. En el año 2012 por ejemplo, la diferencia de la actividad entre otoño y primavera fue del 7.6 % en Livingston (inferior en otoño), mientras que en Navarino fue un 23.6 % superior en otoño. En el año 2014, la diferencia entre estaciones fue del 12.6 % en Livingston, mientras que en Navarino fue un 29.4 % superior en otoño.

**Tabla 4.** Periodos de actividad observados en *Usnea aurantiaco-atra* (Uaa), en *Umbilicaria aprina* (Uapr) y *Umbilicaria antarctica* (Uan) en el presente trabajo (a) y en trabajos de monitorización similares (b; c; d). Para cada uno de los trabajos se indican: la fuente; la duración del periodo estudiado (Periodo total); las fechas, localidad y especies sobre las que se desarrolla cada estudio; la actividad (% de horas en actividad del total del periodo estudiado); la actividad en condiciones de luz (Act. % en Luz); la actividad en condiciones de oscuridad (Act. % en Osc.); la proporción entre periodos de actividad en condiciones de luz y de oscuridad (Luz / Osc.); y la temperatura promedio en el entorno próximo del liquen para el total del periodo estudiado (T liq total, °C) y para los periodos de actividad (T liq act, °C). Leyenda de localidades y regiones: en Isla Livingston (Isla Liv.); Isla Navarino (Isla Nav.); Valles Secos (Dry Vall.); Botany Bay (Bot. Bay); región Subantártica (Suban.); región de la Antártica Marítima (Marit.); región de la Antártida Continental (Dry Vall.; Cont.).

Fuente	(a) Resultados monitorización		(b) Raggio <i>et al.</i> 2015		(c) Schroeter <i>et al.</i> 2010		(d) Schroeter <i>et al.</i> 2000
Periodo total	16.5 meses		4.5 meses		27 meses		36 meses
Fecha	(2012; 2014)		(2010)		(2001-2003)		(1992 - 1994)
Localidad	Isla Liv.	Isla Nav.	Isla Liv.	Dry Vall.	Isla Liv.	Bot. Bay	Isla Liv.
Región	Marit.	Suban.	Marit.	Cont.	Marit.	Cont.	Marit.
Especie	Uaa	Uaa	Uan	Uap	Uaa	Uap	Uaa
Actividad (%)	71,9	42,9	45,6	0,2	18,1	4,6	51,7
Act. (%) en Luz	34,9	13,0	22,5	0,2	7,1	4,6	15,2
Act. (%) en Osc.	37,0	29,9	23,2	0,0	11,0	0,0	36,5
Luz / Osc.	49 / 51	30 / 70	49 / 51	100 / 0	40 / 60	100 / 0	29 / 71
Tliq total (°C)	-0,7	1,5	0,1	-18,0	-0,1	-9,5	-
Tliq act. (°C)	-0,7	-0,1	1,1	3,6	0,9	0,1	-

### 3.5 Condiciones de microclima y mesoclima asociadas a los periodos de actividad

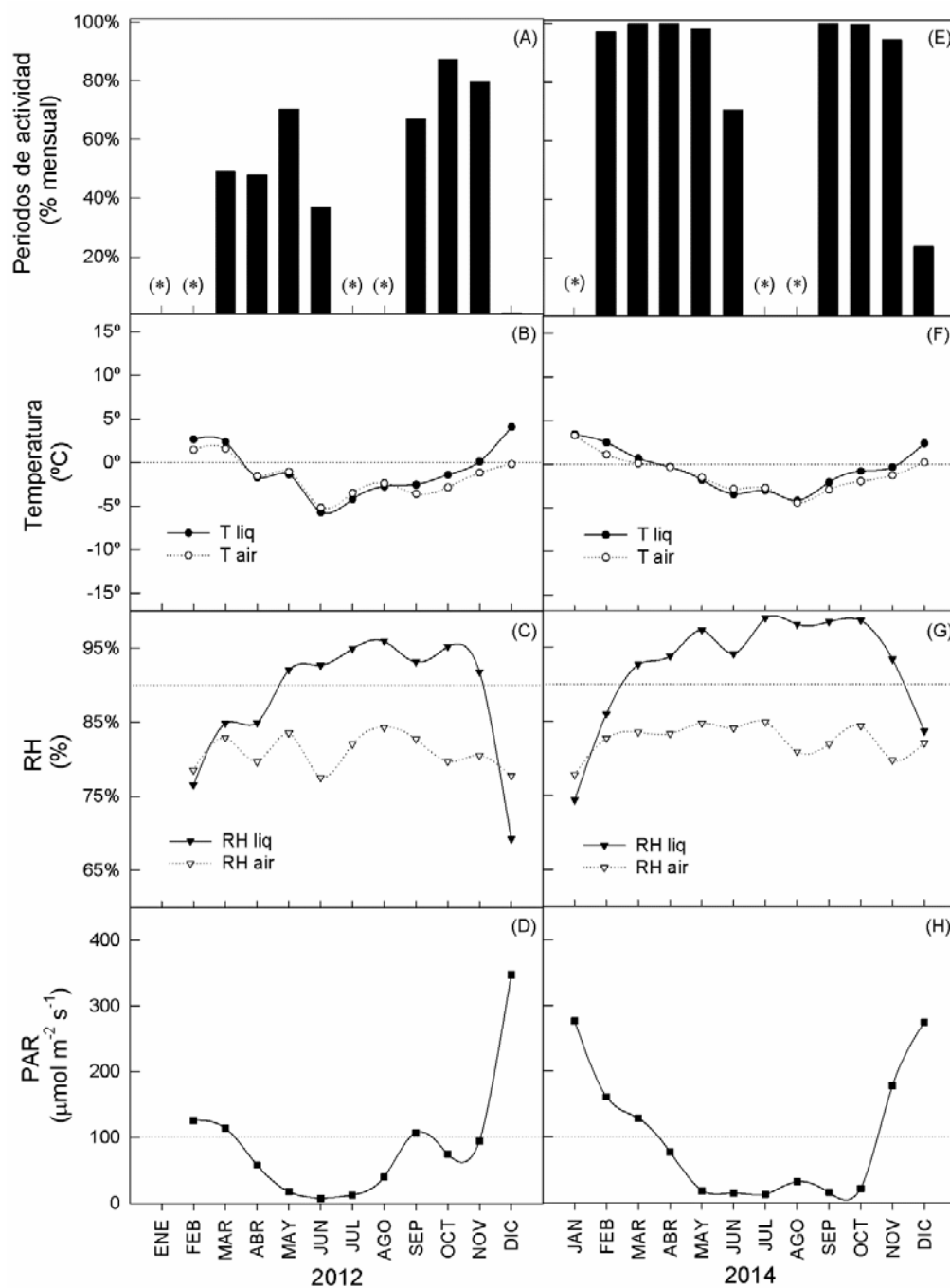
Los porcentajes de actividad se desglosaron por meses para Livingston (**Figura 2**) y Navarino (**Figura 3**), para los años 2012 y 2014; y se representaron en paralelo a las condiciones de temperatura del aire y del liquen (°C; **Figura 2 B y F**; **Figura 3 B y F**); de humedad del aire y del liquen (%; **Figura 2 C y G**; **Figura 3 C y G**); y radiación ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; **Figura 2 D y H**; **Figura 3 D y H**) registradas mediante el data-logger Squirrel de las estaciones de Livingston y Navarino respectivamente. Los mismos porcentajes de actividad mensuales se relacionaron mediante regresiones con los valores promedio mensuales de dichas condiciones microclimáticas (Tliq, RH liq, PAR) y mesoclimáticas (T air, RH air). La actividad mensual (%) no se correlacionó significativamente con T liq en Livingston ( $R_{\text{sqr}} = 0.05$ ;  $p = 0.37$ ), pero sí disminuyó significativamente con el aumento de Tliq en Navarino ( $R_{\text{sqr}} = 0.46$ ;  $p = 0.003$ ), **Figura 4-A**. La actividad mensual (%) no se correlacionó significativamente con T air ni en

Livingston ( $R_{sqr} = 0.001$ ;  $p = 0.9$ ) ni en Navarino ( $R_{sqr} = 0.001$ ;  $p = 0.9$ ), **Figura 4-B**. La actividad mensual (%) aumentó significativamente con el aumento de RH liq en Livingston ( $R_{sqr} = 0.64$ ;  $p = 0.0001$ ) y en Navarino ( $R_{sqr} = 0.63$ ;  $p = 0.0001$ ), **Figura 5-A**. La actividad mensual (%) aumentó significativamente con el aumento de RH air en Livingston ( $R_{sqr} = 0.31$ ;  $p = 0.019$ ) y en Navarino ( $R_{sqr} = 0.41$ ;  $p = 0.005$ ), **Figura 5-B**. La actividad mensual (%) disminuyó significativamente con el aumento de PAR en Livingston ( $R_{sqr} = 0.23$ ;  $p = 0.025$ ) y en Navarino ( $R_{sqr} = 0.51$ ;  $p = 0.001$ ), **Figura 6**. De todas las variables estudiadas, la que mejor explicaba la variación de la actividad mensual (%) era RH liq, con valores de  $R_{sqr}$  superiores a 0.6 (**Figura 5-A**).

**Tabla 5.** Desglose anual de la actividad (%) observada en cada una de las localidades (Livingston y Navarino) durante los periodos estudiados; de la actividad (%) en condiciones de luz; de la actividad (%) en condiciones de oscuridad; del ratio luz / oscuridad sobre el total de la actividad; y de la actividad (%) observada durante el otoño austral (Marzo-Junio) y durante la primavera austral (Septiembre-Diciembre).

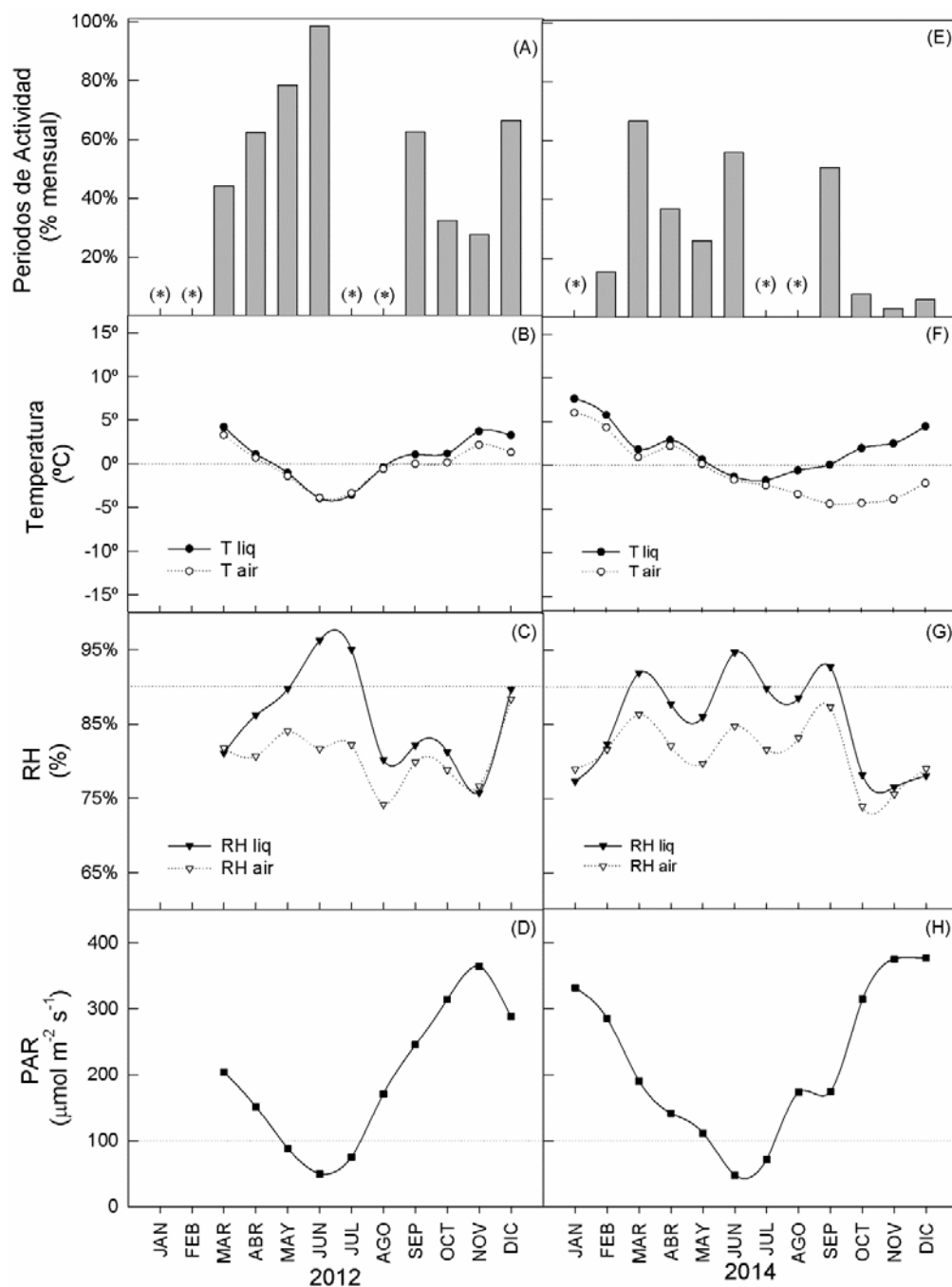
	Livingston		Navarino	
	2012	2014	2012	2014
Duración del periodo estudiado	8 meses	8.5 meses	8 meses	8.5 meses
Actividad (%) en el periodo estudiado	55.0	87.9	57.9	29.3
Actividad (%) en condiciones de luz	24	45.1	19.2	7.4
Actividad (%) en condiciones de oscuridad	31	42.7	38.8	21.9
Ratio luz / oscuridad	44 / 56	51 / 49	33 / 67	25 / 75
Actividad (%) durante el otoño austral	51,0	92,1	70,8	46,4
Actividad (%) durante la primavera austral	58,6	79,5	47,2	17,0

**Figura 2.** Porcentajes mensuales de actividad (% A y E) de la especie *U. aurantiaco-atra* registrados mediante el aparato MoniDA de Isla Livingston durante los años 2012 y 2014; y condiciones ambientales correspondientes a la misma estación, registrados mediante el data-logger de la estación (Squirrel) y expresados como promedios mensuales de las variables ambientales de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ , B y F), humedad relativa (% C y G) y radiación PAR ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , D y H). En los meses señalados con asterisco (\*) no se registraron datos de actividad/inactividad porque el aparato MoniDA estuvo inoperativo. La temperatura y humedad relativa medidas en el entorno próximo del líquen se indican como Tliq y RHliq respectivamente. La temperatura y humedad relativa medidas en el entorno próximo del líquen se indican como Tair y RHair respectivamente.





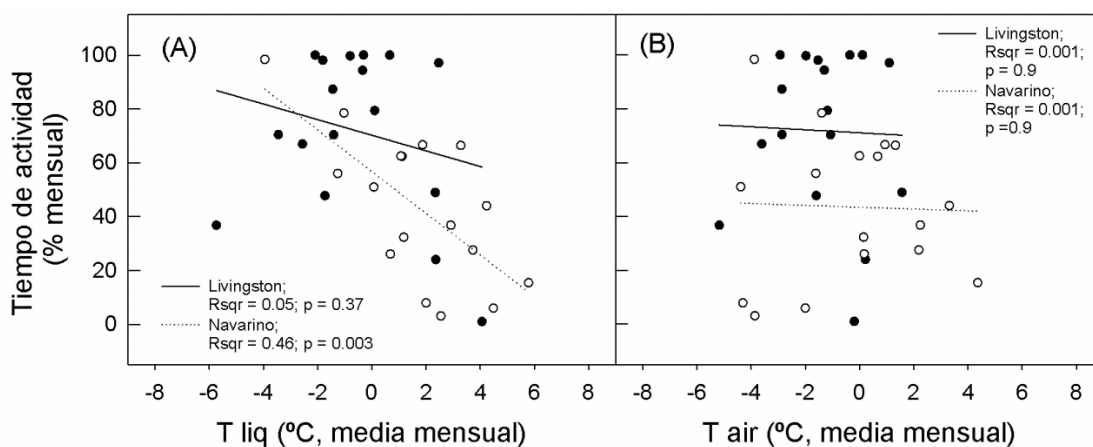
**Figura 3.** Porcentajes mensuales de actividad (% A y E) de la especie *U. aurantiaco-atra* registrados mediante el aparato MoniDA de Isla Navarino durante los años 2012 y 2014; y condiciones ambientales correspondientes a la misma estación, registrados mediante el data-logger de la estación (Squirrel) y expresados como promedios mensuales de las variables ambientales de temperatura (°C, B y F), humedad relativa (% C y G) y radiación PAR ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , D y H). En los meses señalados con asterisco (\*) no se registraron datos de actividad/inactividad porque el aparato MoniDA estuvo inoperativo.



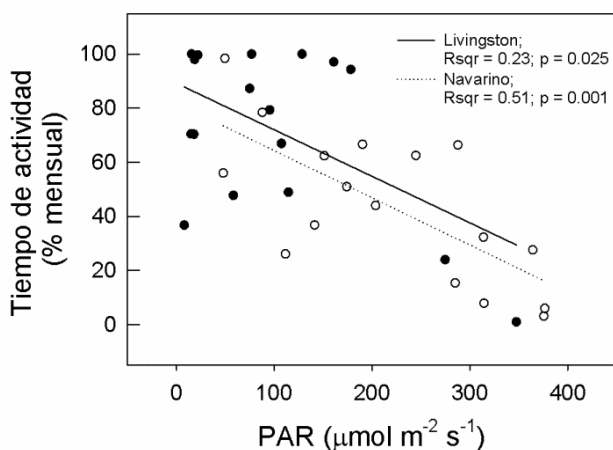
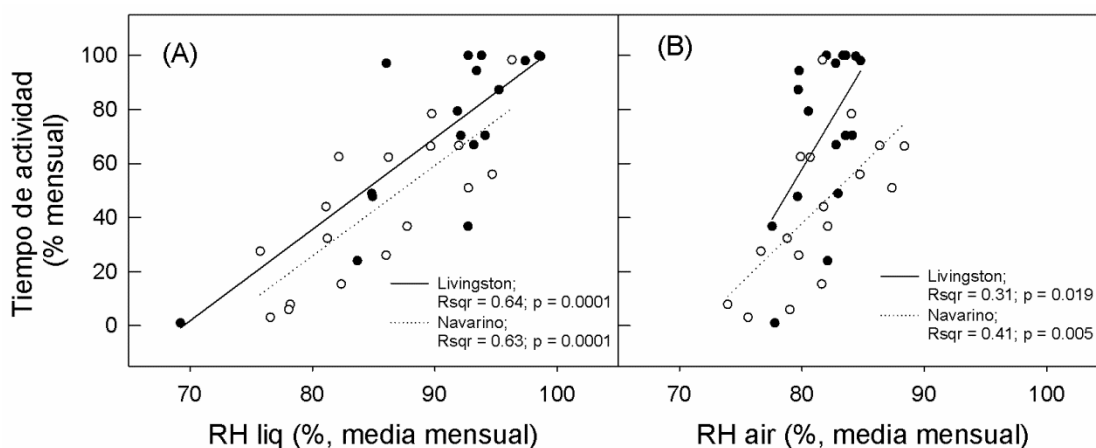
Las condiciones microclimáticas (T liq, RH liq, PAR) y mesoclimáticas (T air, RH air) también se promediaron para el periodo total estudiado (condiciones totales) y para la suma de periodos en actividad (condiciones en actividad), como se detalla en la Tabla 6. Cuando se compararon las condiciones entre localidades, se observó que las condiciones de T liq, T air, RH liq y PAR en actividad eran más similares que las condiciones totales. Por ejemplo, la diferencia entre estaciones de T liq promedio fue de 2.22 °C para el periodo total estudiado, y de 0.60 °C para los periodos de actividad; la diferencia entre estaciones de T air promedio fue de 0.84 °C para el periodo total estudiado, y de 0.18 °C para los periodos de actividad; la diferencia entre estaciones de RH liq promedio fue de 5.5 % para el periodo total estudiado, y de 1.7 % para los periodos de actividad; y la diferencia entre estaciones de PAR promedio fue de 123  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para el periodo total estudiado, y de 40  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para los periodos de actividad. Solo para RH air promedio la diferencia entre estaciones fue menor para el periodo total estudiado (0.3 %), que para los periodos de actividad (3.5 %).

La temperatura acumulada y el PAR, que no se incluyeron en la tabla, se presentan a continuación. Para calcularlos se sumaron todos los valores de PAR o de temperatura registrados para todo el periodo estudiado y para el periodo en actividad. El PAR acumulado total en Livingston y Navarino fue de 2263 y 4875  $\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  respectivamente, mientras que el PAR acumulado en actividad fue de 1181 y 1044  $\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . La temperatura acumulada total en Livingston y Navarino fue de -15725 y 33433 °C respectivamente, mientras que la temperatura acumulada en actividad fue de -11964 y -1035 °C. Es decir, que de nuevo se observaron menores diferencias durante los periodos de actividad.

**Figura 4.** Valores mensuales de actividad (%) de la especie *U. aurantiaco-atra* frente a las medias mensuales de T liq (°C, A) y T air (°C, B) para cada uno de los 16.5 meses estudiados en durante los años 2012 y 2014 en las estaciones de Isla Livingston (círculos negros) y Navarino (círculos blancos). La línea continua representa la regresión lineal que mejor se ajustó a los datos de Livingston, y la línea discontinua la regresión que mejor se ajustó a los datos de Navarino.



**Figura 5.** Valores mensuales de actividad (%) de la especie *U. aurantiaco-atra* frente a las medias mensuales de RH liq (% , A) y RH air (% , B) para cada uno de los 16.5 meses estudiados en durante los años 2012 y 2014 en las estaciones de Isla Livingston (círculos negros) y Navarino (círculos blancos). La línea continua representa la regresión lineal que mejor se ajustó a los datos de Livingston, y la línea discontinua la regresión que mejor se ajustó a los datos de Navarino.



**Figura 6.** Valores mensuales de actividad (%) de la especie *U. aurantiaco-atra* frente a las medias mensuales de PAR ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para cada uno de los 16.5 meses estudiados en durante los años 2012 y 2014 en las estaciones de Isla Livingston (círculos rellenos) y Navarino (círculos huecos). La línea continua representa la regresión lineal que mejor se ajustó a los datos de Livingston, y la línea discontinua la regresión que mejor se ajustó a los datos de Navarino.

**Tabla 6.** Síntesis de los valores promedio, mínimos y máximos de los distintos parámetros microclimáticos registrados en la estación de monitorización de *U. aurantiaco-atra*: temperatura en el entorno próximo del líquen (T liq) y del aire a 1.5 m de altura (T air); humedad relativa en el entorno próximo del líquen (RH liq) y del aire a 1.5 m de altura (RH air); y radiación en el entorno próximo del líquen (PAR); calculados para el periodo total estudiado (16 meses seleccionados de 2012 y 2014) y para el periodo en actividad (cuando, en el que según datos de la misma estación, los líquenes estaban activos). El tamaño de muestra indicado se corresponde con el número de datos registrados durante cada uno de los periodos.

<b>Livingston</b>	<b>Periodo</b>	<b>Media</b>	<b>Sd. Desv.</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Tamaño muestra</b>
T liq (°C)	Total	-0.7	3.4	-13.0	19.6	22704
	Actividad	-0.7	2.6	-10.6	15.7	16970
T air (°C)	Total	-1.5	3.1	-14.8	7.6	22704
	Actividad	-1.2	2.7	-11.8	6.9	16970
RH liq (%)	Total	91	11	25	100	22704
	Actividad	94	8	34	100	16970
RH air (%)	Total	82	11	21	100	22704
	Actividad	84	10	23	100	16970
PAR ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Total	100	243	0	2915	22704
	Actividad	70	191	0	2365	16970
<b>Navarino</b>	<b>Periodo</b>	<b>Media</b>	<b>Sd. Dev.</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	
T liq (°C)	Total	1.5	4.3	-9.2	24.9	21889
	Actividad	-0.1	3.3	-9.2	23.9	9546
T air (°C)	Total	-0.7	3.8	-12.1	11.9	21889
	Actividad	-1.0	3.5	-10.7	10.2	9546
RH liq (%)	Total	85	17	19	100	21889
	Actividad	96	7	33	100	9546
RH air (%)	Total	81	13	23	100	21889
	Actividad	87	11	23	100	9546
PAR ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Total	223	454	0	3205	21889
	Actividad	109	284	0	2720	9546

#### 4. Discusión

Los periodos de actividad observados en el líquen *U. aurantiaco-atra* durante el periodo de más de un año en que fue monitorizado, resultaron ser mayores en Isla Livingston (Antártida Marítima) que en Isla Navarino (región Subantártica de Tierra del Fuego). Aunque dichos resultados mostraron cierta variabilidad interanual, el tiempo en actividad observado para cada uno de los años estudiados también fue mayor siempre en Livingston. Estudios similares llevados a cabo en Livingston corroboran nuestras observaciones sobre la variabilidad de la duración de los periodos de actividad, que resultaron ser del 51.7% en *U. aurantiaco-atra* para el periodo 1992-1994 (Schroeter *et al.* 2000); del 18.1 % para la misma especie en el periodo 2001 – 2003 (Schroeter *et al.* 2011), y del 45 % para *Umbilicaria antarctica* en 2010 (Raggio *et al.* 2016), ver **Tabla 4**. La continuación de este tipo de estudios a largo plazo sería conveniente de cara a minimizar los posibles efectos de las variaciones interanuales sobre las interpretaciones de comparaciones regionales, especialmente para Tierra del Fuego donde no existen registros previos de los periodos de actividad en líquenes. Mientras que en Livingston los periodos de actividad eran similares en otoño y primavera, en Navarino se pudo apreciar una disminución de la actividad en primavera respecto al otoño. Aunque en el presente trabajo no se cuenta con datos de actividad para algunos meses de invierno y verano, se ha comprobado que en Livingston estos son los momentos de menor productividad, siendo la primavera la estación principal de crecimiento de *Usnea* (Schroeter 2000). Los datos aquí presentados para Isla Navarino, los primeros de este tipo para una región subantártica, apuntan a que la estación principal de crecimiento para esta especie clave en las comunidades de tundra altoandina de Isla Navarino sería el otoño.

El ratio entre los periodos de actividad en condiciones de luz y de oscuridad para el periodo total estudiado (y para cada uno de los años por separado), también fue mayor en Isla Livingston, y por tanto más favorable para la obtención de un balance de carbono positivo. Estudios previos de monitorización obtuvieron un ratio similar, entorno al 50 / 50, para el mismo líquen en la Antártida Marítima (**Tabla 4**). Es decir, que en esta región la duración de los periodos de actividad bajo condiciones de luz es similar a la de aquellos que ocurren en condiciones de oscuridad. Sin embargo, el ratio luz / oscuridad obtenido en Navarino fue del 30 / 70. Debido al aumento de la latitud, la disponibilidad de horas de luz entorno al verano sería mayor en Livingston, y esto podría estar detrás de los resultados señalados. En cualquier caso, un predominio de la actividad en condiciones de oscuridad podría tener efectos en la

productividad neta, ya que supondría un predominio del metabolismo respiratorio en oscuridad sobre los periodos de fijación de carbono fotosintética, y por tanto en un balance de carbono menos favorable o negativo (Schroeter *et al.* 1995).

Se ha sugerido en diversas ocasiones que la disponibilidad hídrica podría estar determinando gran parte de los cambios en la vegetación (de biodiversidad, cobertura y tasas de crecimiento) a través de la duración de los periodos de actividad (Green *et al.* 2011; Schlenso *et al.* 2013). Nuestros resultados de la monitorización de *U. aurantiaco-atra* durante varios años apoyaron esta hipótesis. El parámetro que mejor se correlacionó con las variaciones de actividad en ambas localidades a lo largo del año, y que explicó más de un 60 % de su variabilidad, fue la humedad relativa en el entorno próximo del liquen (RH liq), considerada como una aproximación de la disponibilidad hídrica. La humedad relativa medida a 1.5 m de altura también se relacionaba con los periodos de actividad, pero en menor grado. De cara a futuros estudios, por tanto, cabe señalar que la humedad relativa en el entorno próximo del liquen, que se puede registrar fácilmente mediante sencillos data-loggers (como por ejemplo los de tipo iButton®), sería un buen predictor de los periodos de actividad, mientras que la humedad relativa ambiental, a 1.5 m de altura, sería menos fiable a este respecto. Los valores promedio mensuales de temperatura mostraron relaciones menos significativas o nulas con la duración de los periodos de actividad. En general se observó que la temperatura del aire fue más fría que la temperatura en el entorno próximo del liquen. Mientras que T air no mostro ninguna relación significativa con los periodos de actividad mensuales en ninguna de las localidades, T liq se correlaciono con la duración de los mismos, pero solo en Isla Navarino. Es posible por tanto que en Navarino, con mayor déficit hídrico, mayores temperaturas sí supongan una reducción de los periodos de actividad. Esto pone en evidencia, al igual que en el caso de la humedad relativa, la necesidad de diferenciar entre microclima y mesoclima de cara a futuros trabajos de monitorización.

A pesar de las diferencias macroclimáticas (**Tabla 1**) y microclimáticas (**Figura 1**) observadas entre las comunidades de tundra criptogámica estudiadas, las condiciones microclimáticas de humedad y temperatura en el entorno del liquen resultaron ser más parecidas entre regiones durante los periodos de actividad que para el periodo total estudiado. Por ejemplo, mientras que la temperatura media total fue de -0.7 °C y 1.5 °C en Livingston y Navarino respectivamente, el promedio de temperatura en actividad fue de -0.7 °C y -0.1 °C respectivamente. Sin embargo otros autores habían indicado temperaturas promedio en actividad en Livingston positivas, en torno a 1 °C (Schroeter *et al.* 2010; Raggio *et al.* 2016), lo

que de nuevo indica cierta variabilidad interanual (**Tabla 4**). Del mismo modo, el promedio de radiación recibida en actividad fue mucho más similar entre Livingston y Navarino durante los periodos de actividad (de  $70 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y  $109 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  respectivamente) que para el periodo total estudiado, para el cual la radiación media en Navarino resultó ser más del doble ( $223 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) que en Livingston ( $100 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), probablemente debido a una menor nubosidad, al menos en verano. Teniendo en cuenta que los líquenes de las distintas regiones mostraron las mismas tasas fotosintéticas bajo condiciones similares en el laboratorio, y que las condiciones en actividad tampoco eran muy distintas, se podría por tanto deducir que la productividad de *U. aurantiaco-atra* se ha de basar fundamentalmente en la duración de los periodos de actividad.

Estudios de monitorización similares, sincronizados entre latitudes y ambientes todavía más distintos, ya mostraron que las condiciones microclimáticas cuando los líquenes estaban activos, no eran tan diferentes (**Tabla 4**). En base a esto se han relacionado mayores tasas de crecimiento con mayores periodos de actividad (de dos órdenes de magnitud) en la Antártida Marítima frente a la Antártida Continental. En nuestro caso las diferencias entre los periodos de actividad, de un 71.9 en la Antártida Marítima frente a un 42.9 en la región subantártica de Tierra del Fuego, podrían justificar en parte la disminución de cobertura de la especie *Usnea aurantiaco-atra*. La cobertura de líquenes del género *Usnea* en las comunidades de tundra criptogámica, en su conjunto, se reduce en un 50 % en Navarino con respecto a Livingston; mientras que los periodos de actividad se reducen en Navarino un 30% respecto a Livingston. Sin embargo, en este punto ha de tenerse en cuenta otros elementos más allá de las condiciones ambientales, como un aumento de la competitividad por parte de las plantas vasculares, que aumentaron en Isla Navarino, o una sustitución de *U. aurantiaco-atra* por parte de otras especies de líquenes neuropogonoides propias del sur de Sudamérica (ver **Capítulo 1**). Los prolongados periodos de actividad observados en la Antártida Marítima y la falta de competencia justificarían la predominancia de este tipo de comunidades en los ecosistemas terrestres, y estaría en concordancia con el gigantismo característico de este grupo de líquenes en la región (Øvstedal & Smith 2001).

El comportamiento (fotosintético y respiratorio) del líquen *U. aurantiaco-atra* frente a condiciones controladas de contenido hídrico, temperatura y radiación resultó prácticamente idéntico entre los especímenes procedentes de las distintas regiones estudiadas, antártica y subantártica. Los estudios sobre *U. antarctica*, la otra especie de líquen neuropogonoide común a ambas regiones, dieron resultados similares. En base a esto, las relaciones entre la

duración de los periodos de actividad y la productividad se simplifican, permitiendo realizar deducciones más o menos directas en el caso de que las condiciones en las que se produzca la actividad sean similares. La máxima tasa fotosintética de *U. aurantiaco-atra* en su óptimo de hidratación (75 %) se observó entorno a los 12 °C y 1200  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Estas condiciones, sin embargo, están bastante alejadas de las observadas *in situ* durante los periodos de actividad. El líquen *U. aurantiaco-atra* sin embargo, seguía siendo productivo a temperaturas inferiores, con tasas fotosintéticas positivas al menos hasta los -4 °C, y donde los puntos de compensación oscilaron entre los 74 y los 131  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Las condiciones promedio totales observadas *in situ* durante los periodos de actividad, fueron de -0.7 °C (T liq), 94 % (RH liq) y 70  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en Isla Livingston; y de -0.1 °C (T liq), 96 % (RH liq) y 109  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en Navarino (muy similares entre localidades). Se puede deducir por tanto que aunque las condiciones en las que se activan estos líquenes no sean las óptimas, sí permiten un balance de carbono positivo. Esto concuerda con la idea de que los líquenes antárticos generalmente funcionan en condiciones subóptimas, como también ponen en evidencia los óptimos de temperatura de la mayoría de líquenes antárticos (Lechowicz 1982).

También cabe señalar, en relación a los resultados obtenidos bajo condiciones controladas de laboratorio, que la única diferencia entre los ejemplares de una y otra región fue la respiración medida en el óptimo de hidratación (DR opt). Los ejemplares de *U. aurantiaco-atra* procedentes de Isla Livingston mostraron tasas menores de respiración, en las temperaturas más bajas estudiadas bajo condiciones controladas (-4 °C), que los procedentes de Isla Navarino. La respiración en líquenes a bajas temperaturas es mínima, aunque algunos autores han observado incluso cambios estacionales de la misma (Lange & Green 2005). Una menor respiración a bajas temperaturas en Isla Livingston, donde las condiciones típicas en actividad eran ligeramente más frías y la acumulación de nieve mayor, sería ventajosa. Como ya se discutió en profundidad en el **Capítulo 3**, una mayor tasa respiratoria en oscuridad a largo plazo podría tener efectos negativos sobre el balance de carbono en zonas con elevada acumulación de nieve (Schroeter *et al.* 1995). Sin embargo, las diferencias entre localidades son muy pequeñas, por lo que en último término la productividad va a depender de la duración de los periodos de actividad, que es donde se observaron las mayores diferencias.

El rango de variación microclimático observado a lo largo del gradiente latitudinal de unos 200 m estudiado en cada una de las comunidades de tundra (antártica y subantártica), no solapaban para ninguno de los parámetros estudiados (temperatura y humedad relativa en el



entorno próximo del liquen, déficit hídrico, y días bajo nieve), ver **Figura 1** y **Tabla 3**. La temperatura, resultó 2.6 °C mayor en Navarino; y el déficit hídrico atmosférico también era más del doble en esta localidad (238 kPa frente a 104 kPa de VPD acumulado). Por otro lado, la humedad relativa del aire y el número de días bajo nieve fue mayor en Livingston (95.7 % RH; 149 días bajo nieve) que en Navarino (91.9 % RH; 93 días bajo nieve). Las variaciones microclimáticas son menores que las variaciones macroclimáticas entre regiones (menores por ejemplo que los 7° C de diferencia en la temperatura media anual). Sin embargo todavía pueden explicar algunos de los cambios observados en el resto de elementos de vegetación que componen las comunidades de tundra estudiadas. Una mayor abundancia de plantas vasculares en la tundra de Isla Navarino concuerda con las mayores temperaturas observadas. Las plantas vasculares podrían beneficiarse de las altas temperaturas aprovechando el reservorio hídrico del suelo, a diferencia de los líquenes que se secarían debido al mayor déficit hídrico. Por otro lado, la mayor abundancia de musgos en Livingston, que también dependen en gran parte de la humedad relativa por ser poiquilohídricos, coincide con una mayor disponibilidad hídrica atmosférica (estimada aquí mediante el VPD) de esta localidad.

En conclusión, las principales diferencias de cobertura vegetal se relacionaron con unas condiciones relativamente más cálidas y secas en la tundra subantártica de Tierra del Fuego, frente a las condiciones más húmedas y frías de la tundra de la Antártida marítima. En el caso de la especie clave *U. aurantiaco-atra*, una menor cobertura en Navarino se podría relacionar una reducción de sus periodos de actividad, debido a la menor disponibilidad hídrica en su entorno próximo. Durante los periodos de actividad sin embargo, las condiciones microclimáticas y el comportamiento de estos líquenes fueron muy similares en ambas regiones. Parece por tanto que en Navarino los líquenes neuropogonoides se desarrollan ahí donde (y sobre todo, cuando) las condiciones son más similares a las de la Antártida Marítima, mientras que el resto del tiempo, en que las condiciones eran más cálidas y secas, plantas vasculares se estarían viendo beneficiadas.

## **Discusión general y propuesta de futuros estudios**



En las últimas décadas se está observando un aumento global de las temperaturas por causas de origen antropogénico (IPCC 2007; IPCC 2014). La Antártida Marítima es una de las regiones más afectadas por este fenómeno (Turner *et al.* 2005), y algunos efectos ya se pueden observar en forma de retroceso glacial, o de incrementos en la cobertura de plantas vasculares (Smith 1994; Convey 2006). Existen diversas estrategias para monitorizar el impacto del calentamiento sobre los ecosistemas naturales, entre las cuales se incluyen el uso de modelos a pequeña escala sobre especies individuales y de comparaciones con lugares ligeramente más cálidos o más fríos, lo cual se puede conseguir a través de desplazamientos latitudinales (Howard-Williams *et al.* 2006). El gradiente latitudinal antártico está siendo investigado en este sentido (Peat *et al.* 2007; Sancho *et al.* 2007a; Green *et al.* 2011). En el presente trabajo, se considera la región más austral de Sudamérica (Tierra del Fuego, Chile) como una extensión del gradiente latitudinal antártico a través del paso de Drake. El sur de Sudamérica es el territorio continental más cercano a la Antártida. Ambas regiones son de clima muy oceánico, aunque considerablemente más frío en el lado Antártico del Paso de Drake. Esto impide la colonización de la mayoría de plantas vasculares, pero mantiene una elevada similitud florística para la flora de musgos y líquenes de ambas regiones (Redón & Quilhot 1977; Etayo & Sancho 2008). Todo esto ha llevado a la inclusión de Tierra del Fuego entre las regiones subantárticas (Morrone 2000, Rozzi *et al.* 2008). Las comunidades de tundra antártica y subantártica dominadas por líquenes neuropogonoides del género *Usnea* son comunes a ambos territorios, aunque aparecen a distintas altitudes. En el presente trabajo, se procedió a comparar dichas comunidades mediante la caracterización de la vegetación y el microclima de dichas comunidades; mediante el estudio del comportamiento fotosintético y respiratorio de distintas especies de líquenes neuropogonoides *in situ* y bajo condiciones controladas de laboratorio; y mediante el análisis filogenético de ambos componentes de la simbiosis.

*Usnea* es un género cosmopolita y ampliamente distribuido de líquenes de biotipo fruticuloso que se reconocen fácilmente por sus ramas de simetría radial y con un eje condroide central (Clerc 1998). Entre sus más de 600 especies, algunas de ellas están reunidas bajo el grupo *Neuropogon*. Aunque el grupo no tiene un estatus taxonómico, el término “líquen neuropogonoide” es un término aceptado para referirse a las especies saxícolas y con pigmentación oscura dentro del Género *Usnea*. Recientemente se revisó la filogenia del grupo (Wirtz *et al.* 2006) y se comprobó que es polifilético. Es decir, que sus características, las cuales se consideran adaptaciones a ambientes polares y alpinos, han surgido en varias ocasiones. Sin embargo dicha revisión aún está incompleta, a falta de la delimitación de las especies de Australasia principalmente. Dada la importancia de este grupo en las regiones antárticas, sería

necesario que se avance en su estudio filogenético a nivel mundial, y disponer así una monografía actualizada en base a técnicas moleculares que incluyera los caracteres identificativos y la distribución de todas las especies del grupo. Por otro lado, de cara al uso de estos organismos como bioindicadores, sería recomendable la modelización de la distribución actual de las distintas especies a nivel global. Con respecto al fotobionte apenas había información disponible de su identidad a nivel específico para este grupo de líquenes (Cao *et al.* 2015). En el estudio aquí presentado, todas las especies de *Usnea* estudiadas se asociaron preferentemente con el mismo haplotipo de fotobionte de la especie *T. jamesii*. Por otro lado, desde el punto de vista fisiológico, todas las especies estudiadas mostraron una respuesta fotosintética similar ante las manipulaciones de temperatura y radiación en los experimentos de intercambio gaseoso. Se observó que el óptimo de temperatura en estos líquenes se encontraba entorno a los 10 °C, como corresponde a líquenes de latitudes altas (Lechowicz 1982), y que las tasas de fotosíntesis neta todavía eran positivas a la temperatura más fría estudiada (-4 °C). Todo apunta a que se trata de un fotobionte propio de regiones frías (Fernández-Mendoza *et al.* 2011, Jones *et al.* 2013), y que las diferencias fisiológicas y ecológicas entre especies dependen del micobionte. Sería interesante investigar el fotobionte de este grupo de líquenes en otras regiones para poder hacer inferencias a nivel biogeográfico. En cualquier caso, ni la identidad del fotobionte ni la capacidad fotosintética pudieron explicar en el caso aquí presentado las diferencias de distribución entre especies.

En Isla Livingston se investigó la distribución así como la respuesta de intercambio gaseoso, de un par de especies, líquenes estrechamente relacionados con distintas estrategias reproductivas, *U. aurantiaco-atra* (fértil) y *U. antarctica* (sorediada). Conocer los factores que controlan la distribución de los líquenes en la Antártida es un asunto clave a la hora de evaluar los posibles efectos del calentamiento global (Green *et al.* 2011). La distribución local de estas especies se estudió a lo largo de un gradiente de cerca de 300 m en la Bahía Sur, en Isla Livingston, y el microclima también fue registrado a lo largo de un año. La respuesta fotosintética a cambios en la temperatura, radiación y contenido hídrico del talo se determinaron bajo condiciones controladas de laboratorio. Estas especies resultaron ser casi idénticas en sus perfiles fotosintéticos. Localmente, *U. antarctica* se confinaba en los sitios de menor altitud, relativamente más cálidos y secos, mientras que *U. aurantiaco-atra* estaba presente en todas las altitudes. Esto contrasta con su distribución a lo largo del continente antártico, ya que *U. antarctica* crece 9° de latitud más al sur que *U. aurantiaco-atra*. La temperatura se descarta por tanto como un factor principal que controle la distribución de

estas especies, mientras que la disponibilidad hídrica se presenta como un factor importante en este sentido.

En Isla Navarino, de nuevo todas las especies tuvieron un comportamiento fotosintético muy similar, y en los experimentos de intercambio gaseoso solo se observaron algunas diferencias con respecto a las tasas de respiración en oscuridad medidas a bajas temperaturas. Esto, junto con los resultados de los estudios de cobertura y microclima, apunta a que la disponibilidad hídrica y la acumulación de nieve son dos parámetros fundamentales para comprender la distribución de estos líquenes, que afectaron en distinto grado a las distintas especies estudiadas. Se observaron especies de estrategia especialista, que ocupaban preferentemente zonas venteadas y expuestas; y se observaron especies de estrategia generalista, que eran más tolerantes a distintas condiciones. Estos resultados fueron más evidentes cuando las especies se agruparon en base al grosor del cordón axial en relación al diámetro de la rama, uno de los caracteres anatómicos más informativos para la identificación de linajes monofiléticos dentro del grupo *Neuropogon* (Seymour *et al.* 2007). Las principales diferencias fisiológicas observadas entre las especies estudiadas estaban relacionadas con los valores de contenido hídrico óptimo y máximo. Sin embargo, se sabe poco acerca de donde se acumula el agua en estas especies, por lo que estudios en este sentido serían de gran interés.

El macroclima de las regiones estudiadas (Antártida marítima y Tierra del Fuego) es claramente distinto, como se corresponde con un aumento de entorno a diez grados de latitud pero, con el aumento de altitud en Tierra del Fuego, se pueden encontrar condiciones similares en un lado y otro del paso de Drake (lo que justifica la existencia de comunidades de vegetación similares). Aun así, las condiciones microclimáticas en la tundra antártica y subantártica no son las mismas. Las condiciones son relativamente más cálidas y secas en Isla Navarino, donde, según los resultados aquí presentados, los líquenes neuropogonoides permanecen inactivos más tiempo. Sin embargo, cuando se activan, generalmente se encuentran bajo las mismas condiciones en ambas regiones. Los líquenes neuropogonoides, por tanto, aparecen en Tierra del Fuego ahí donde (y cuando) ocurren condiciones similares a las que se dan en la Antártida marítima. *U. aurantiaco-atra* es la especie dominante en ambas localidades estudiadas, Isla Livingston (Islas Shetland del Sur, Antártida Marítima) e Isla Navarino (Tierra del Fuego, Chile), y se ha considerado un organismo modelo para poder comprender mejor las relaciones entre el microclima y la vegetación de tundra criptogámica. Los resultados aquí presentados apuntan a que las diferencias climáticas entre regiones determinan la mayor o menor abundancia de los líquenes neuropogonoides en la medida en que afectan a la duración de sus periodos de

actividad. La duración de los mismos estaba a su vez muy relacionada con la disponibilidad hídrica en el entorno próximo del líquen, como cabe esperar para organismos poiquilohídricos. Estas diferencias se vieron reflejadas en la abundancia de la especie clave *U. aurantiaco-atra*, que mostró coberturas de entorno al doble en la localidad antártica frente a la subantártica. En conclusión, una menor duración de los periodos en actividad en Isla Navarino podría explicar la menor biomasa (medida como cobertura) de *U. aurantiaco-atra*. Trabajos de monitorización similares en líquenes antárticos, mostraron diferencias de hasta dos órdenes de magnitud en los periodos de actividad entre las regiones de la Antártida marítima y continental (Raggio *et al.* 2016), que se relacionaron con diferencias de magnitud similar observadas en las tasas de crecimiento.

Los líquenes del grupo *Neuropogon* han sido señalados como potenciales bioindicadores del cambio global (Ellis & Yahr 2011). Su distribución abarca regiones antárticas, subantárticas, árticas y altoandinas (Walker 1985). Precisamente su distribución restringida a determinadas regiones de tundra y a cierto tipo de ambientes de zonas rocosas y expuestas, es lo que los hace potencialmente sensibles al calentamiento climático. En el caso de *U. aurantiaco-atra*, el parámetro que mejor predijo los niveles de actividad mensual fue la humedad relativa del entorno próximo del líquen, por lo que en el contexto del calentamiento global, cambios en la disponibilidad hídrica serán determinantes en la composición de estas comunidades. Dichos cambios podrían ocurrir directamente a través de cambios en las precipitaciones (ya sean en forma de lluvia o de nieve) o indirectamente a través de cambios en la temperatura o la radiación incidente, que a su vez puede depender de la nubosidad y de la acumulación de nieve (Vaughan *et al.* 2001; Schneider *et al.* 2012). A su vez, las distintas especies de *Usnea* estudiadas, con su distribución local mostraron respuestas diferentes ante pequeñas variaciones ambientales. Desde el punto de vista fisiológico, solo se encontraron algunas diferencias significativas en relación a los parámetros de acumulación de agua y de respiración, ambos procesos dependientes del componente fúngico de la simbiosis. Por tanto, es difícil predecir los efectos concretos sobre estas comunidades, que por otro lado tan sutilmente se relacionan con las condiciones de su entorno. Trabajos recientes de manipulación climática en la Antártida Marítima ya han mostrado por ejemplo que un aumento artificial de la acumulación de nieve provoca un efecto claramente negativo sobre *U. aurantiaco-atra* (Bokhorst *et al.* 2015). Un aumento de la temperatura, por otro lado también conlleva el aumento de plantas vasculares, y de la competencia por su parte sobre los líquenes. Los líquenes, generalmente no son buenos competidores frente a las plantas vasculares, pero en regiones polares y alpinas frecuentemente dominan la vegetación. Cambios en la temperatura

pueden alterar el equilibrio entre ambos tipos de organismos, modificando las relaciones de competencia entre ellos en aquellos substratos donde ambos conviven. El cambio climático puede suponer por tanto cambios en la abundancia de estos líquenes o incluso en la composición de especies de las comunidades de tundra estudiadas. Futuros estudios ecofisiológicos y de monitorización a largo plazo sobre diversas especies de líquenes neuropogonoides en distintas regiones serán de gran interés para avanzar en el conocimiento de los efectos del clima en este tipo de vegetación.





## **Conclusiones generales**



A partir de los estudios filogenéticos sobre el micobionte y el fotobionte de los líquenes neuropogonoides del género *Usnea* presentes en las comunidades de tundra criptogámica de Isla Livingston e Isla Navarino se extrajeron las siguientes conclusiones:

- La especie de líquen predominante en ambas localidades es *U. aurantiaco-atra*, que resultó molecularmente indistinguible de su contraparte asexual, *U. antarctica*. En Isla Navarino se encuentran además otras cuatro especies de líquenes neuropogonoides: *U. acromelana*, *U. trachycarpa*, *U. subantarctica* y *U. ushuaiensis*.
- Las relaciones entre los biontes son poco específicas. De las cinco especies de micobionte estudiadas, todas se asocian preferentemente con un mismo haplotipo de fotobionte de la especie *Trebouxia jamesii*, pero también con otros haplotipos de la misma especie y con otros linajes de *Trebouxia*, mostrando una selectividad moderada.
- El haplotipo de *Trebouxia* predominante, que es el mismo en ambas localidades estudiadas, coincide con el fotobionte de otros líquenes presentes en regiones alpinas europeas, lo cual concuerda con la hipótesis de la existencia de fotobiontes propios de regiones frías, independientemente de la distancia entre ellas.

A partir del estudio del par de especies *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica* en Isla Livingston se extrajeron las siguientes conclusiones:

- Las dos especies estudiadas tienen un comportamiento fotosintético y respiratorio idéntico en relación al contenido hídrico óptimo, a la luz y a la temperatura, y sólo se diferenciaron en el contenido hídrico máximo, que era superior en la especie fértil *U. aurantiaco-atra*.
- La temperatura se descarta como un factor determinante en la distribución de estas dos especies, mientras que la disponibilidad hídrica se confirma como un factor clave.
- *U. antarctica* se relaciona en general con condiciones relativamente más secas, y localmente en Livingston se asocia a sitios con mayor déficit hídrico.

A partir del estudio de la vegetación, del microclima y del comportamiento fotosintético de cuatro especies de líquenes del género *Usnea* en la tundra subantártica de Isla Navarino, se extrajeron las siguientes conclusiones:

- La presencia de plantas vasculares disminuye con la elevación, en paralelo al descenso de la temperatura, mientras que las criptógamas generalmente aumentaron en bloques con menor acumulación de nieve y mayor déficit hídrico.
- Las especies de líquenes neuropogonoides de cordón axial grueso ocupan preferentemente localidades verticales, con menor acumulación de nieve y mayor déficit hídrico, y muestran un mayor rendimiento fotosintético en el óptimo de temperatura e hidratación.
- Las especies de cordón axial fino estudiadas, *U. trachycarpa* y *U. ushuaiensis*, son más generalistas en su selección de hábitat, y alcanzan valores mayores de contenido hídrico máximo.
- La especie *U. aurantiaco-atra* alcanza tasas de respiración superiores que el resto de especies a bajas temperaturas, y ocupa preferentemente las zonas de crestas, lo que se identificó como un comportamiento quionóforo (de evitación de nieve).

A partir del análisis comparativo de microclima y vegetación en las comunidades de tundra criptogámica antártica y subantártica estudiadas, y de la monitorización a largo plazo de *U. aurantiaco-atra*, se extrajeron las siguientes conclusiones:

- La cobertura de criptógamas, de líquenes neuropogonoides y de *U. aurantiaco-atra*, es mayor que en Livingston que en Navarino, donde las plantas vasculares son más abundantes.
- Las condiciones microclimáticas totales son relativamente más cálidas y secas en Navarino. Sin embargo, las condiciones microclimáticas mientras los líquenes están activos, son muy similares entre localidades.
- El comportamiento fotosintético de *Usnea aurantiaco-atra* bajo condiciones controladas de laboratorio es muy similar en ejemplares procedentes de las distintas regiones estudiadas.
- En Livingston, los periodos de actividad de *U. aurantiaco-atra* son más prolongados, y el ratio luz oscuridad durante los periodos de actividad es más favorable.
- En ambas localidades, la humedad relativa en el entorno próximo del liquen fue el factor que mejor explicaba la duración de los periodos de actividad.

## **Bibliografía**



- Ahmadjian V (1958) A guide for the identification of algae occurring as lichen symbionts. *Botaniska Notiser* 111, 632–644
- Álvarez I & Wendel JF (2003) Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and evolution*, 29, 417-434.
- Articus K (2004) *Neuropogon* and the phylogeny of *Usnea* s.l. (*Parmeliaceae*, Lichenized Ascomycetes). *Taxon*, 925-934.
- Bañón M (2001) Observaciones meteorológicas en la B.A.E. Juan Carlos I. MMA. Monografía A, 151. Instituto Nacional de Meteorología.
- Bañón M, Justel A, Velázquez D & Quesada A (2013) Regional weather survey on Byers Peninsula, Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Antarctic Science*, 25, 146-156.
- Balarinová K, Barták M, Hazdrová J, Hájek J & Jílková J (2014) Changes in photosynthesis, pigment composition and glutathione contents in two Antarctic lichens during a light stress and recovery. *Photosynthetica*, 52, 538-547
- Bargagli R, Borghini F, Monaci F (2003) The sea as major source of ions to lichens in terrestrial ecosystems of Victoria Land. In: *Antarctic biology in a global context*, Huiskes AHL, Gieskes WWC, Rozema J, Schorno RML, van der Vies SM, Wolff WJ (eds) Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp 157-160
- Beck A, Kasalicky T & Rambold G (2002) Myco-photobiontal selection in a Mediterranean cryptogam community with *Fulgensia fulgida*. *New Phytologist*, 153, 317-326
- Benedict JB (1990a) Lichen mortality due to late-lying snow: results of a transplant study. *Arctic and Alpine Research*, 22, 81-89
- Benedict JB (1990b) Experiments on lichen growth. I. Seasonal patterns and environmental controls. *Arctic and Alpine Research*, 22, 244-254
- Benedict JB (1991) Experiments on lichen growth II. Effects of a seasonal snow cover. *Arctic and Alpine Research*, 189-199
- Bidussi M, Solhaug KA & Gauslaa Y (2016) Increased snow accumulation reduces survival and growth in dominant mat-forming arctic-alpine lichens. *The Lichenologist*, 48, 237-247
- Bokhorst S, Convey P, Huiskes A & Aerts R (2015) *Usnea antarctica*, an important Antarctic lichen, is vulnerable to aspects of regional environmental change. *Polar Biology*, 1-11
- Brancaleoni L, Strelin J & Gerdol R (2003) Relationships between geomorphology and vegetation patterns in subantarctic Andean tundra of Tierra del Fuego. *Polar Biology*, 26, 404-410
- Buck WR & Goffinet B (2010) Preliminary key to the mosses of Isla Navarino, Chile (Prov. Antártica Chilena). *NOVA HEDWIGIA*, 215-229
- Buschbom, J. (2007). Migration between continents: geographical structure and long-distance gene flow in *Porpidia flavicunda* (lichen-forming Ascomycota). *Molecular Ecology*, 16, 1835-1846



- Callaway RM, Pennings SC, Richards CL (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology*, 84, 1115-1128
- Cao S, Zheng H, Liu C, Tian H, Zhou Q & Zhang F (2015) The various substrates of *Usnea aurantiaco-atra* and its algal sources in the Fildes Peninsula, Antarctica. *Advances in Polar Science*, 26, 274-281.
- Casanovas P, Lynch HJ, Fagan WF (2013) Multi-scale patterns of moss and lichen richness on the Antarctic Peninsula. *Ecography*, 36, 209-219
- Castillo RV & Beck A (2012) Photobiont selectivity and specificity in *Caloplaca* species in a fog-induced community in the Atacama Desert, northern Chile. *Fungal Biology*, 116, 665-676
- Clement M, Posada D & Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9, 1657-1659
- Clerc P (1998) Species concepts in the genus *Usnea* (lichenized Ascomycetes). *The Lichenologist*, 30, 321-340.
- Colesie C, Green TGA, Haferkamp I, Büdel B (2014) Habitat stress initiates changes in composition, CO<sub>2</sub> gas exchange and C-allocation as life traits in biological soil crusts. *The ISME journal* 8, 2104-2115
- Convey P (2006) Antarctic climate change and its influences on terrestrial ecosystems. In *Trends in Antarctic terrestrial and limnetic ecosystems* (pp. 253-272). Springer Netherlands
- Coxson DS & Kershaw KA (1983) The ecology of *Rhizocarpon superficial*. II. The seasonal response of net photosynthesis and respiration to temperature, moisture, and light. *Canadian Journal of Botany*, 61, 3019-3030
- Crittenden, PD (1998) Nutrient exchange in an Antarctic macrolichen during summer snowfall–snow melt events. *New Phytologist*, 139, 697-707
- Davey MC, Pickup J & Block W (1992) Temperature variation and its biological significance in fellfield habitats on a maritime Antarctic island. *Antarctic Science*, 4, 383-388
- De los Rios A, Sancho LG, GrubeM, Wierzos J & Ascaso C (2005) Endolithic growth of two *Lecidea* lichens in granite from continental Antarctica detected by molecular and microscopy techniques. *New Phytologist* 165: 181-190
- Domaschke S, Fernández-Mendoza F, Garcia MA, Martín MP & Printzen C (2012) Low genetic diversity in Antarctic populations of the lichenforming ascomycete *Cetraria aculeata* and its photobiont. *Polar Research*, 31
- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32, 1792-1797
- Ellis CJ & Yahr R (2011) An interdisciplinary review of climate change trends and uncertainties: lichen biodiversity, arctic-alpine ecosystems and habitat loss. *Climate change, ecology and*

- systematics. Edited by TR Hodgkinson, MB Jones, S. Waldren, and JAN Parnell Cambridge University Press, Cambridge, 457-489
- Ellstrand NC & Elam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual review of Ecology and Systematics*, 24, 217-242.
- Etayo J & García Sancho L (2008) Hongos liquenícolas del sur de Sudamérica, especialmente de Isla Navarino (Chile). J. Cramer.
- Fernández-Mendoza F, Domaschke S, García MA, Jordan P, Martín MP, & Printzen C (2011) Population structure of mycobionts and photobionts of the widespread lichen *Cetraria aculeata*. *Molecular Ecology*, 20, 1208-1232
- Geml J, Kauff F, Brochmann C, & Taylor DL (2010) Surviving climate changes: high genetic diversity and transoceanic gene flow in two arctic-alpine lichens, *Flavocetraria cucullata* and *F. nivalis* (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*). *Journal of Biogeography*, 37, 1529-1542
- Green TGA (2009) Lichens in arctic, antarctic and alpine ecosystems. Bayer. Akademie d. Wissenschaften (Hrsg.): Rundgespräche der Kommission für Ökologie, 36, 45-65
- Green TGA, Büdel B, Meyer A, Zellner H, Lange OL (1997) Temperate rainforest lichens in New Zealand: light response of photosynthesis. *NZ J Bot* 35:493-504
- Green TGA, Schroeter B, Sancho LG (2007) Plant Life in Antarctica. In: Pugnaire FI, Valladares F (eds) *Functional Plant Ecology*, 2nd edn. CRC press, Boca Ratón, USA, pp 389-434
- Green TGA, Sancho LG, Pintado A, Schroeter B (2011) Functional and spatial pressures on terrestrial vegetation in Antarctica forced by global warming. *Polar Biol* 34, 1643-1656
- Hájek J, Váczi P, Barták M & Jahnová L (2012) Interspecific differences in cryoresistance of lichen symbiotic algae of genus *Trebouxia* assessed by cell viability and chlorophyll fluorescence. *Cryobiology*, 64, 215-222
- Hancock RJ, Seppelt RD (1988) Habitat specificity and morphological variation in two Antarctic *Usnea* species. *Polarforschung* 58, 285-291
- Harrison PM, Rothery P (1988) Net CO<sub>2</sub> exchange in relation to thallus moisture and temperature in two fruticose lichens *Usnea antarctica* and *Usnea aurantiaco-atra* from the maritime Antarctic. *Polarforschung* 58, 171-179
- Henskens FL, Green TGA, & Wilkins A (2012) Cyanolichens can have both cyanobacteria and green algae in a common layer as major contributors to photosynthesis. *Annals of botany*, 110(3), 555-563.
- Hestmark G (1991) Teleomorph-anamorph relationships in *Umbilicaria*. II. Patterns in propagative morph production. *Lichenologist* 23, 361-380
- Hooker T N (1980) Growth and production of *Usnea antarctica* and *U. fasciata* on Signy Island, South Orkney Islands. *Br Antarct Surv Bull* 50, 35-49

- Hovenden MJ, Jackson AE & Seppelt RD (1994) Field photosynthetic activity of lichens in the Windmill Islands oasis, Wilkes Land, continental Antarctica. *Physiologia Plantarum*, 90, 567-576
- Howard-Williams C, Peterson D, Lyons WB, Cattaneo-Vietti R & Gordon S (2006) Measuring ecosystem response in a rapidly changing environment: the Latitudinal Gradient Project. *Antarctic Science*, 18(04), 465-471.
- Howard-Williams C, Hawes I, Gordon S (2010) The environmental basis of ecosystem variability in Antarctica: research in the Latitudinal Gradient Project. *Antarct Sci* 22, 591-602
- <http://www.ipcc.ch/>
- <http://www.ipcc.ch/>
- Ivanova NV, Dewaard JR & Hebert PD (2006) An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular ecology notes*, 6, 998-1002
- Jones TC, Hogg ID, Wilkins RJ, Green TGA (2013) Photobiont selectivity for lichens and evidence for a possible glacial refugium in the Ross Sea Region, Antarctica. *Polar Biol* 36, 767-774
- Kappen L & Breuer M (1991) Ecological and physiological investigations in continental Antarctic cryptogams II. Moisture relations and photosynthesis of lichens near Casey Station, Wilkes Land. *Antarctic Science*, 3, 273-278
- Kappen L & Redon J (1987) Photosynthesis and water relations of three maritime Antarctic lichen species. *Flora* 179, 215-229
- Kappen L (1983) Ecology and physiology of the Antarctic fruticose lichen *Usnea sulphurea* (Koenig) Th. Fries. *Polar biology*, 1, 249-255.
- Kappen L (1985) Water relations and net photosynthesis of *Usnea*. A comparison between *Usnea fasciata* (maritime Antarctic) and *Usnea sulphurea* (continental Antarctic). In: *Lichen Physiology and Cell Biology*, Brown DH (ed) Plenum Press, New York, pp 41-56
- Kappen L (1988) Ecophysiological relationships in different climatic regions. *Handbook of lichenology*, 2, 37-100
- Kappen L (1989) Field measurements of carbon dioxide exchange of the Antarctic lichen *Usnea sphacelata* in the frozen state. *Antarctic Science*, 1, 31-34.
- Kappen L (1990) *Usnea sphacelata*, its role in the vegetation and its possible growth capacity on Bailey Peninsula, Wilkes Land. *Bibl Lichenol*, 38, 277-289.
- Kappen L (1993) Plant activity under snow and ice, with particular reference to lichens. *Arctic* 46, 297-302
- Kappen L, Schroeter B, Green TGA & Seppelt R D (1998) Chlorophyll a fluorescence and CO<sub>2</sub> exchange of *Umbilicaria aprina* under extreme light stress in the cold. *Oecologia*, 113, 325-331
- Kappen L (2000) Some aspects of the great success of lichens in Antarctica. *Antarctic Science*, 12, 314-324

- Kappen L, Bolter M, Kuhn A (1987) Photosynthetic activity of lichens in natural habitats in the maritime Antarctic. *Bibl Lichenol* 25, 297-312
- Kappen, L., Schroeter, B., Green, T. G. A., & Seppelt, R. D. (1998). Chlorophyll *a* fluorescence and CO<sub>2</sub> exchange of *Umbilicaria aprina* under extreme light stress in the cold. *Oecologia*, 113, 325-331.
- Kennedy AD (1995) Antarctic terrestrial ecosystem response to global environmental change. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 26: 683-704
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA (2008) Dictionary of the Fungi, 10th edn. CABI, Wallingford.
- Körner, C. (1999). Alpine plant life. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, USA.
- Laguna-Defior, C., Pintado, A., Green, T. A., Blanquer, J. M., & Sancho, L. G. (2015). Distributional and ecophysiological study on the Antarctic lichens species pair *Usnea antarctica* / *Usnea aurantiaco-atra*. *Polar Biology*, 1-13.
- Lamb IM (1964) Antarctic lichens: the genera *Usnea*, *Ramalina*, *Himantormia*, *Alectoria*, *Cornicularia*. BAS Scientific Report 38. British Antarctic Survey, Cambridge.
- Lange OL & Green TA (2005) Lichens show that fungi can acclimate their respiration to seasonal changes in temperature. *Oecologia*, 142, 11-19
- Lange OL, & Kappen L (1972) Photosynthesis of lichens from Antarctica (pp. 83-95). American Geophysical Union.
- Lange OL, Meyer A, Zellner H y Heber U (1994) Photosynthesis and water relations of lichen soil crusts: field measurements in the coastal fog zone of the Namib Desert. *Functional Ecology* 8, 253-264
- Larson DW (1989) The impact of ten years at -20°C on gas exchange in five lichen species. *Oecologia* 78, 87-92
- Lawler JJ, Aukema JE, Grant JB, Halpern, BS, Kareiva P, Nelson CR, Ohleth K, Olden JD, Schlaepfer MA, Silliman BR & Zaradic P (2006) Conservation science: a 20-year report card. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4, 473-480
- Leavitt SD, Kraichak E, Nelsen MP, Altermann S, Divakar PK, Alors D, Esslinger TL, Crespo A & Lumbsch HT (2015) Fungal specificity and selectivity for algae play a major role in determining lichen partnerships across diverse ecogeographic regions in the lichen-forming family *Parmeliaceae* (*Ascomycota*). *Molecular ecology*, 24, 3779-3797.
- Lechowicz MJ (1982) Ecological trends in lichen photosynthesis. *Oecologia*, 53, 330-336
- Li Y, Kromer B, Schukraft G, Bubenzer O, Huang MR, Wang ZM, Bian LG, Li CS (2014) Growth rate of *Usnea aurantiaco-atra* (Jacq.) Bory on Fildes Peninsula, Antarctica and its climatic background. *PLoS One* 9 :e100735 doi: 10.1371/journal.pone.0100735
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451-1452

- Lindsay DC (1974) New taxa and new records of lichens from South Georgia. Bulletin of the British Antarctic Survey, 39, 13-20
- Longton RE (1988) Biology of polar briophytes and Lichens. Cambridge University Press, Cambridge, 391 pp
- López Martínez J, Martínez de Pisón E & Arche A (1991) Pulsaciones glaciares y terrazas marinas escalonadas en los alrededores de la Base Antártica Española. Isla Livingston. Shetland del Sur. Geogaceta, 9, 44-47.
- Luebert F & Pliscoff P (2006) Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile. Editorial Universitaria.
- Lumbsch HT & Leavitt SD (2011) Goodbye morphology? A paradigm shift in the delimitation of species in lichenized fungi. Fungal Diversity, 50, 59-72
- Lumbsch HT & Wirtz N (2011) Phylogenetic relationships of the neuropogonoid core group in the genus *Usnea* (Ascomycota: Parmeliaceae). The Lichenologist, 43, 553-559
- Lumbsch HT, Chaves-Chaves JL, Umaña-Tenorio L & Lücking R (2011) One hundred new species of lichenized fungi: a signature of undiscovered global diversity. Un centenar de nuevas especies de hongos liquenizados: una firma de la diversidad mundial por descubrir. Phytotaxa, 18, 1-127
- Lüttge U & Scarano FR (2004) Ecophysiology. Brazilian Journal of Botany, 27(1), 1-10
- Mark AF, Dickinson KJ, Allen J, Smith R & West CJ (2001) Vegetation patterns, plant distribution and life forms across the alpine zone in southern Tierra del Fuego, Argentina. Austral Ecology, 26, 423-440
- Marshall W (1996) Aerial dispersal of lichen soredia in the maritime Antarctic. New Phytol 134, 523-530
- Mattson JE, Lumbsch HT (1989) The use of the species pair concept in lichen taxonomy. Taxon 38, 238-241
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. Journal of experimental botany, 51, 659-668.
- Méndez M, Rozzi R, & Cavieres L (2013) Flora vascular y musgos en la zona altoandina de la Isla Navarino (55° S), Reserva de la Biosfera Cabo de Hornos, Chile. Gayana Botánica, 70, 338-344.
- Mittermeier RA, Mittermeier CG, Brooks, TM, Pilgrim, JD, Konstant WR, Da Fonseca GA & Kormos C (2003) Wilderness and biodiversity conservation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100, 10309-10313
- Moreira-Muñoz A (2007) The Austral floristic realm revisited. Journal of Biogeography, 34, 1649-1660
- Morrone J (2000) Biogeographic delimitation of the Subantarctic subregion and its provinces. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales nueva serie, 2, 1-15

- Muggia L, Grube M & Tretiach M (2008) Genetic diversity and photobiont associations in selected taxa of the *Tephromela atra* group (Lecanorales, lichenised Ascomycota). *Mycological Progress*, 7, 147-160
- Muñoz J, Felicísimo ÁM, Cabezas F, Burgaz AR, & Martínez I (2004). Wind as a long-distance dispersal vehicle in the Southern Hemisphere. *Science*, 304, 1144-1147
- Murray FW (1967) On the computation of saturation vapour pressure. *J App Meteorology* 6, 203-204
- Myllys L, Stenroos S, Thell A & Ahti T (2003) Phylogeny of bipolar *Cladonia arbuscula* and *Cladonia mitis* (Lecanorales, Euascomycetes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27, 58-69
- Nagy L & Grabher G (2009) *The Biology of Alpine Habitats*. Oxford University Press
- Nash III TH (2008) Introduction. En TH Nash III (ed) *Lichen Biology*, segunda edición. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 1-8
- Ochyra R, Smith RIL & Bednarek-Ochyra H (2008) *The illustrated moss flora of Antarctica*. Cambridge University Press.
- Ohmura Y & Kanda H (2004) Taxonomic status of section *Neuropogon* in the genus *Usnea* elucidated by morphological comparisons and ITS rDNA sequences. *The Lichenologist*, 36, 217-225.
- Olivero EB & Martinioni DR (2001) A review of the geology of the Argentinian Fuegian Andes. *Journal of South American Earth Sciences* 14, 175-188
- Olson DM & Dinerstein E (1998) The Global 200: a representation approach to conserving the Earth's most biologically valuable ecoregions. *Conservation Biology*, 12, 502-515
- Olson, DM, Dinerstein E, Wikramanayake ED, Burgess ND, Powell GV, Underwood EC, D'Amico JA, Itoua I, Strand HE, Morrison JC, Loucks CJ, Allnutt TF, Ricketts TH, Kura Y, Lamoreux JF, Wettengel WW, Hedao P, and Kassem KR (2001) *Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth* A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience*, 51, 933-938
- Øvstedal DO & Smith RIL (2001) *Lichens of Antarctica and South Georgia: a guide to their identification and ecology*. Cambridge University Press, 441 pp.
- Pannewitz S, Schlensog M, Green TA, Sancho LG & Schroeter B (2003) Are lichens active under snow in continental Antarctica?. *Oecologia*, 135, 30-38
- Pannewitz S, Green TA, Schlensog M, Seppelt R, Sancho LG & Schroeter B (2006) Photosynthetic performance of *Xanthoria mawsonii* CW Dodge in coastal habitats, Ross Sea region, continental Antarctica. *The Lichenologist*, 38, 67-81
- Peat HJ, Clarke A & Convey P (2007) Diversity and biogeography of the Antarctic flora. *Journal of Biogeography*, 34, 132-146.
- Peel MC, Finlayson BL & McMahon TA (2007) Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, 4, 439-473.

- Peksa O & Škaloud P (2011) Do photobionts influence the ecology of lichens? A case study of environmental preferences in symbiotic green alga *Asterochloris* (*Trebouxiophyceae*). *Molecular Ecology*, 20, 3936-3948
- Pérez-Ortega S, Ortiz-Álvarez R, Green TGA & de los Ríos A (2012) Lichen myco-and photobiont diversity and their relationships at the edge of life (McMurdo Dry Valleys, Antarctica). *FEMS microbiology ecology*, 82, 429-448
- Piercey-Normore MD & DePriest PT (2001) Algal switching among lichen symbioses. *American Journal of Botany*, 88(8), 1490-1498
- Pintado A, Valladares F & Sancho LG (1997) Exploring Phenotypic Plasticity in the Lichen *Ramalina capitata*: Morphology, Water Relations and Chlorophyll Content in North-and South-facing Populations. *Annals of Botany*, 80, 345-353.
- Pintado A, Sancho LG & Valladares F (2001) The influence of microclimate on the composition of lichen communities along an altitudinal gradient in the maritime Antarctic. *Symbiosis* 31, 69-84
- Pisano Valdés E (1997) Los bosques de Patagonia Austral y Tierra del Fuego chilenas. In *Anales del Instituto de la Patagonia*, 25 9-19
- Raggio J, Pintado A, Ascaso C, De La Torre R, De Los Rios A, Wierzechos J, Horneck G & Sancho LG (2011) Whole lichen thalli survive exposure to space conditions: results of Lithopanspermia experiment with *Aspicilia fruticulosa*. *Astrobiology*, 11, 281-292
- Raggio J, Green TGA, & Sancho LG (2016) In situ monitoring of microclimate and metabolic activity in lichens from Antarctic extremes: a comparison between South Shetland Islands and the McMurdo Dry Valleys. *Polar Biology*, 1-10
- Rambold G, Triebel D (1992) The interlecanolalean associations. *Bibliotheca Lichenologica*, 48, 1–210.
- Ramos M, Hasler A, Vieira G, Hauck C, Gruber S (2009) Drilling and Installation of Boreholes for Permafrost Thermal Monitoring on Livingston Island in the Maritime Antarctic. *Permafrost Periglacial Process* 20, 57-64
- Redón J & Quilhot W (1977) Los líquenes de Isla Navarino. I. Estudio sistemático y ecológico preliminar. *Serie Científica Instituto Antártico Chileno*, 5, 65-70.
- Rivas-Martínez S, Navarro G, Penas A, & Costa M (2011) Biogeographic map of South America. A preliminary survey. *International Journal of Geobotanical Research*, 1, 21-40.
- Romeike J, Friedl T, Helms G & Ott S (2002) Genetic diversity of algal and fungal partners in four species of *Umbilicaria* (lichenized ascomycetes) along a transect of the Antarctic Peninsula. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 1209-1217
- Rozzi R, Massardo F, Berghoefer A, Mansilla A, Anderson CB, Berghöfer A, Mansilla M, Gallardo MR, Plana J, Berghöfer U, Arango X, Russell S, Araya P & Barros E (2007) La Reserva de Biosfera Cabo de Hornos: un desafío para la conservación de la biodiversidad e implementación del

- desarrollo sustentable en el extremo austral de América. *Anales Instituto Patagonia* 35 (1): 55-70
- Rozzi R, Armesto JJ, Goffinet B, Buck W, Massardo F, Silander J, Arroyo MTK, Russell S, Anderson CB, Cavieres LA & Callicott JB (2008) Changing lenses to assess biodiversity: patterns of species richness in sub-Antarctic plants and implications for global conservation. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6, 131-137
- Rozzi R, Armesto JJ, Gutiérrez JR, Massardo F, Likens GE, Anderson CB, Poole A, Moses KP, Hargrove E, Mansilla AO, Kennedy JH, Willson M, Jax K, Jones CG, Callicott JB, & Arroyo MTK (2012) Integrating ecology and environmental ethics: earth stewardship in the southern end of the Americas. *BioScience*, 62, 226-236
- Ruprecht U, Brunauer G, & Printzen C (2012) Genetic diversity of photobionts in Antarctic lecideoid lichens from an ecological view point. *The Lichenologist* 44, 661-678.
- Ruprecht U, Brunauer G, & Türk R (2014) High photobiont diversity in the common European soil crust lichen *Psora decipiens*. *Biodiversity and conservation*, 23, 1771-1785
- Ryan PG & Watkins BP (1989) The influence of physical factors and ornithogenic products on plant and arthropod abundance at an inland nunatak group in Antarctica. *Polar Biology*, 10, 151-160
- Sàbat F, Serrat D & Vilaplana JM (1992) Cenozoic tectonic evolution in Livingston Island (South Shetland, Antarctica): Mesostructural and geomorphological approach. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 5, 159-166.
- Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge DM, Harold A Mooney, Oesterheld M, Poff NL, Sykes T, Walker BH, Walker M, Wall DH (2000) Global Biodiversity Scenarios for the year 2100. *Science* 287,1770-1774
- Sancho LG, Schulz F, Schroeter B, Kappen L (1999) Bryophyte and lichen flora of South Bay (Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctica). *Nova Hedwigia* 68, 301-337
- Sancho LG, Green TGA, Pintado A (2007) Slowest to fastest: extreme range in lichen growth rates supports their use as an indicator of climate change in Antarctica. *Flora* 202, 667-673
- Sancho LG, De la Torre R, Horneck G, Ascaso C, de los Rios A, Pintado A, Wierzbos J & Schuster M (2007) Lichens survive in space: results from the 2005 LICHENS experiment. *Astrobiology*, 7, 443-454
- Sancho LG, Palacios D, Green TGA, Vivas M & Pintado A (2011) Extreme high lichen growth rates detected in recently deglaciated areas in Tierra del Fuego. *Polar Biology*, 34(6), 813-822
- Schlenz M, Green TGA & Schroeter B (2013) Life form and water source interact to determine active time and environment in cryptogams: an example from the maritime Antarctic. *Oecologia*, 173, 59-72



- Schneider DP, Deser C & Okumura Y (2012) An assessment and interpretation of the observed warming of West Antarctica in the austral spring. *Climate Dynamics*, 38, 323-347
- Schreiber UN, Bilger W & Neubauer C (1995) Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In *Ecophysiology of photosynthesis* (pp. 49-70). Springer Berlin Heidelberg.
- Schroeter B, Kappen L & Moldaenke C (1991) Continuous in situ recording of the photosynthetic activity of Antarctic lichens—established methods and a new approach. *The Lichenologist*, 23, 253-265
- Schroeter B, Olech M, Kappen L & Heitland W (1995) Ecophysiological investigations of *Usnea antarctica* in maritime Antarctic. I Annual microclimatic conditions and potential primary production. *Antarct Sci* 7, 251-260
- Schroeter B, Kappen L, Schulz F & Sancho LG (2000) Seasonal variation in the carbon balance of lichens in the maritime Antarctic: long term measurements of photosynthetic activity in *Usnea aurantiaco-atra*. In: Davidson W, Howard-Williams C, Broady P (eds) *Antarctic ecosystems: model for wider ecological understanding*, Caxton Press, Christchurch, pp, 220-224
- Schroeter B, Green TGA, Pannewitz S, Schlenz M & Sancho LG (2010) Fourteen degrees of latitude and a continent apart: comparison of lichen activity over two years at continental and maritime Antarctic sites. *Antarct Sci* 22, 681-690
- Schroeter B, Green TGA, Pannewitz S, Schlenz M & Sancho LG (2011) Summer variability, winter dormancy: lichen activity over 3 years at Botany Bay 77°S latitude, continental Antarctica. *Polar Biol* 34, 13-22
- Seymour FA, Crittenden PD, Wirtz N, Øvstedal DO, Dyer PS & Lumbsch HT (2007) Phylogenetic and morphological analysis of Antarctic lichen-forming *Usnea* species in the group *Neuropogon*. *Antarct Sci* 19, 71–82
- Smellie JL, Pankhurst RJ, Thomson MRA & Davies RES (1984) The geology of the South Shetland Islands. VI: Stratigraphy, geochemistry and evolution. *Scientific reports-British Antarctic Survey*, (87).
- Smith EL (1938) Limiting factors in photosynthesis: light and carbon dioxide. *J Gen Physiol* 22, 21-35
- Smith RIL (1984) Terrestrial plant biology of the sub-Antarctic and Antarctic. In: Laws RM (ed.) *Antarctic Ecology Vol.1*. Academic Press, London, pp. 61-162
- Smith RIL (1994) Vascular plants as bioindicators of regional warming in Antarctica. *Oecologia*, 99, 322-328
- Søchting U & Castello M (2012) The polar lichens *Caloplaca darbishirei* and *C. soropelta* highlight the direction of bipolar migration. *Polar biology*, 35, 1143-1149
- Søchting U, Øvstedal DO, Sancho LG (2004) The lichens of Hurd Peninsula, Livingston Island, South Shetlands, Antarctica. *Bibl Lichenol* 88, 607-658

- Sommerkorn M, Schroeter B, Schlenz M, & Green TGA (2000) The ability of lichens to benefit from natural CO<sub>2</sub> enrichment under a spring snow-cover: a study with two arctic-alpine species from contrasting habitats. In New aspects in cryptogamic research: contributions in honour of Ludger Kappen. (Vol. 75, pp. 365-380). J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung.
- Stomeo F, Makhalanyane TP, Valverde A, Pointing SB, Stevens MI, Cary CS, Tuffin MI & Cowan DA (2012) Abiotic factors influence microbial diversity in permanently cold soil horizons of a maritime-associated Antarctic Dry Valley. FEMS microbiology ecology, 82, 326-340.
- Templeton AR, Crandall KA, & Sing CF (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. Genetics, 132, 619-633
- Truong C, Divakar PK, Yahr R, Crespo A & Clerc P (2013) Testing the use of ITS rDNA and protein-coding genes in the generic and species delimitation of the lichen genus *Usnea* (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*). Molecular phylogenetics and evolution, 68, 357-372.k
- Tuhkanen, S. (1992). The climate of Tierra del Fuego from a vegetation geographical point of view and its ecoclimatic counterparts elsewhere. Acta Bot. Fenn, 145, 64p.
- Turner JKL (1997) Antarctic meteorology and climatology. Cambridge University Press, 409 pp
- Turner J, Colwell SR, Marshall GJ, Lachlan-Cope TA, Carleton AM, Jones PD, Lagun V, Reid PA & Iagovkina S (2005) Antarctic climate change during the last 50 years. International journal of Climatology, 25, 279-294
- Valladares F, & Sancho LG (2000) The relevance of nutrient availability for lichen productivity in the maritime Antarctic. Bibliotheca Lichenologica, 75, 189-200
- Valladares F Sancho LG & Ascaso C (1998) Water storage in the lichen family *Umbilicariaceae*. Botanica Acta, 111, 99-107
- Vaughan DG, Marshall GJ, Connolly WM, King JC & Mulvaney R (2001) Devil in the detail. Science - New York then Washington-, 1777-1778
- Vieira G, Mora C, Pina P & Schaefer CE (2014) A proxy for snow cover and winter ground surface cooling: mapping *Usnea* sp. communities using high resolution remote sensing imagery (maritime Antarctica). Geomorphology, 225, 69-75
- Walker FJ (1985) The lichen genus *Usnea* subgenus *Neuropogon*. Bulletin of the British Museum (Natural History), Bot 13, 1-130
- Werth S & Sork VL (2010) Identity and genetic structure of the photobiont of the epiphytic lichen *Ramalina menziesii* on three oak species in southern California. American Journal of Botany, 97, 821-830

- Werth S & Sork VL (2014) Ecological specialization in *Trebouxia* (*Trebouxiophyceae*) photobionts of *Ramalina menziesii* (*Ramalinaceae*) across six range-covering ecoregions of western North America. *American journal of botany*, 101, 1127-1140
- Winkworth RC, Wagstaff SJ, Glenny D & Lockhart PJ (2002)
- Wirtz N, Lumbsch HT, Green TG, Türk R, Pintado A, Sancho L & Schroeter B (2003) Lichen fungi have low cyanobiont selectivity in maritime Antarctica. *New Phytologist*, 160, 177-183
- Wirtz N, Printzen C, Sancho LG, & Lumbsch HT (2006) The phylogeny and classification of *Neuropogon* and *Usnea* (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*) revisited. *Taxon*, 55, 367-376
- Wirtz N, Printzen C & Lumbsch HT (2008) The delimitation of Antarctic and bipolar species of neuropogonoid *Usnea* (*Ascomycota*, *Lecanorales*): a cohesion approach of species recognition for the *Usnea perpusilla* complex. *Mycological research*, 112, 472-484.
- Wirtz N, Printzen C & Lumbsch HT (2012) Using haplotype networks, estimation of gene flow and phenotypic characters to understand species delimitation in fungi of a predominantly Antarctic *Usnea* group (*Ascomycota*, *Parmeliaceae*). *Organisms Diversity & Evolution*, 12, 17-37.
- Yahr R, Vilgalys R & DePriest PT (2006) Geographic variation in algal partners of *Cladonia subtenuis* (*Cladoniaceae*) highlights the dynamic nature of a lichen symbiosis. *New Phytologist*, 171, 847-860
- Zar JH (1999) *Biostatistical analysis*. Pearson Education India
- Zúñiga C, Leiva D, Ramírez-Fernández L, Carú M, Yahr R & Orlando J (2015) Phylogenetic diversity of *Peltigera* cyanolichens and their photobionts in Southern Chile and Antarctica. *Microbes and Environments*, 30, 172

## **ANEXO A.**

**Caracterización en base a datos morfológicos y moleculares de los líquenes del grupo Neuropogon del género *Usnea* presentes en Isla Navarino e Isla Livingston.**



En el presente apartado se relacionan los resultados del análisis molecular del micobionte con las características morfológicas y anatómicas del material, con el objetivo último de proporcionar una guía fiable para la identificación *in situ* de las especies objeto de estudio en Livingston y Navarino. Para ello, se revisó el estado actual de la clasificación del grupo Neuropogon y sus especies. La monografía de Walker (1985) contiene la descripción más exhaustiva del grupo Neuropogon desde el punto de vista morfológico, anatómico y de su distribución. Aunque el estatus subgenérico del grupo propuesto en la monografía ha sido descartado en base a estudios moleculares posteriores, las descripciones realizadas por parte de dicha autora siguen vigentes en la actualidad. Posteriormente se sintetizan los avances conseguidos por Wirtz y colaboradores en relación a la filogenia del grupo Neuropogon y la delimitación de sus especies, para finalmente exponer el caso de estudio de Livingston y Navarino.

## 1. Descripción del grupo Neuropogon (Genero *Usnea*)

Walker (1985), que consideraba el grupo Neuropogon como un Subgénero, describió las características del grupo como sigue: *“Talo fruticuloso, saxícola, excepcionalmente terrícola o lignícola, que surge de una base o bien pequeña y delimitada o bien proliferativa, erguido o subdecumbente, de monopódico a  $\pm$  subdicótomo o irregular, abundantemente ramificado en la parte superior, en ocasiones con fibrilas laterales cortas o con numerosas ramas secundarias que se estrechan progresivamente. Ramas de un color amarillo claro que tiende ligeramente a verde, que durante el almacenamiento se va volviendo amarillo intenso o marrón anaranjado,  $\pm$  jaspeadas con pigmentación morada oscura o negra, especialmente hacia los ápices. Ramas cilíndricas o raramente de sección transversal angulosa. Superficie suave, en ocasiones foveolada, con un brillo ceroso o mate, con anulaciones pigmentadas o ligeramente escábrida,*

*en ocasiones papilada pudiendo llegar a verrucosa o rugosa, raramente maculada. Cifelas y pseudocifelas ausentes.”*

Con respecto a la anatomía del talo en corte transversal, describe: *“Cortex de grosor variable, entre 50 y 200  $\mu\text{m}$ , de un pseudoparénquima fuertemente gelatinizado que en ocasiones forma una capa de tipo empalizada hacia el exterior. Medula compacta, laxa o sublaxa de hifas entrelazadas y no orientadas. Fotobionte: Chlorophycea cocoide, que forma una capa  $\pm$  continua bajo el córtex. Cordón axial condroide, rígido, que ocupa entre el 0.2 y el 0.7 (pudiendo llegar al 0.9) del diámetro de la rama, cilíndrico o ligeramente irregular, entero, muy raramente subdividido, de hifas paraplectenquimáticas fuertemente gelatinizadas, longitudinales, fastigiadas.”*

Con respecto a las estructuras reproductivas, añade: *“Isidios raros, pseudoisidios y soledios presentes con frecuencia. Apotecios lecanorinos, subterminales o laterales, de subsésiles a geniculados, con o sin espuela inferior. Disco negro, raramente marrón anaranjado, mate o subnítido, no pruinoso. Excípulo del mismo color que el talo, suave, foveolado, escábrido o verrucoso, papilado, con o sin rayos marginales numerosos  $\pm$  pigmentados. Tecio de 60-75  $\mu\text{m}$  de altura, epitecio negro aeruginoso o raramente marrón, himenio verde azulado en la parte superior, incoloro en la inferior. Ascospores claviformes, entorno a 45x16  $\mu\text{m}$ , con 8 ascospores por asco. Ascospores simples, hialinas, elipsoides, de 7-10x5-7  $\mu\text{m}$ , de pared gruesa (en torno a 1  $\mu\text{m}$ ). Paráfisis capitadas, simples o ramificadas, conglutinadas. Picnidios raros, pigmentados, inmersos en ramas terminales, conidios de sublageniformes a filiformes.”*

Con respecto a las propiedades químicas, indica: *“Dépsidos, despsidonas, ácidos grasos, sustancias UV positivas indeterminados, y ácido úsnico”*. Y finalmente, con respecto a la

distribución del grupo expone: “*Distribución polar alpina, predominantemente en el hemisferio sur con una especie también presente en el hemisferio norte.*”

## 2. Descripción según Walker de las principales especies estudiadas:

Según Walker (1985) las especies incluidas en este grupo eran: *U. acromelana*, *U. antarctica*, *U. aurantico-atra*, *U. acanthella*, *U. ciliata*, *U. durietzii*, *U. neuropogonoides*, *U. patagonica*, *U. perpusilla*, *U. pseudocapillaris*, *U. sphacelata*, *U. subantarctica*, *U. subcapillaris*, *U. taylori*, y *U. trachycarpa*. A continuación se describen las principales especies con las que se ha trabajado en la presente tesis doctoral, según aparecen en la monografía de Walker (1985). Téngase en cuenta que algunos cambios y sugerencias han sido recientemente realizados por Wirtz y colaboradores en base a sus estudios moleculares de delimitación de especies (los cuales se exponen en el siguiente apartado).

*Usnea acromelana* Stirton.

**Caracteres morfológicos:** Talo de 2-4 cm generalmente (aunque puede variar entre 1.5-6 cm) que surge de una base pigmentada proliferativa o que raramente está delimitada, generalmente erguido,  $\pm$  monopódico o subdicótomo, moderadamente ramificado en la parte superior, generalmente sin fibrilas. Ramas cilíndricas, de color amarillo claro que tiende ligeramente a verde,  $\pm$  continuamente pigmentadas de un color violáceo hacia los ápices. Cortex grueso. Superficie lisa o raramente subfoveolada, cerosa, epapiladas, con anulaciones de borde oscuro conspicuas en las ramas principales. Medula compacta, eje grueso que ocupa en torno a 0.5 del diámetro de la rama. Soralios numerosos en ramas primarias y secundarias, planos y discretos, en ocasiones confluentes, raramente convexos-globosos y pulverulentos. Soredios granulares, no pigmentados, o parcialmente corticados y entonces pigmentados.



Pseudoisidios raros, isidios ausentes. Apotecios raros, subterminales. Picnidios no descritos.

**Distribución:** En Australasia aparece en las regiones alpinas de Nueva Zelanda. En Sudamérica (Patagonia) es probablemente menos frecuente. En la Península Antártica es rara, probablemente confinada al extremo noroeste.

*Usnea antarctica* Du Rietz.

**Caracteres morfológicos:** Talo de 2-5 cm generalmente (aunque puede variar entre 1.5-10 cm) que surge de una base raramente pigmentada  $\pm$  delimitada, erguido, más o menos dicótomo, ampliamente ramificado en la parte superior con numerosas ramas que se estrechan progresivamente, rara vez con fibrilas. Ramas cilíndricas, de color amarillo claro que tiende ligeramente a verde, más o menos continuamente pigmentadas de un color violáceo hacia los ápices. Cortex de grosor variable. Superficie mate, de subpapilada a abundantemente papilada, papilas generalmente no pigmentadas, ausencia de anulaciones de borde oscuro. Medula compacta, eje grueso que ocupa 0.5-0.7 del diámetro de la rama. Soralios  $\pm$  abundantes a lo largo del talo, entre planos y excavados, raramente pulviniformes, que surgen de papilas, delimitados, con frecuencia con un margen crateriforme característico. Soredios granulares, no pigmentados, o parcialmente corticados y entonces pigmentados. Pseudoisidios raros, isidios ausentes. Apotecios raros, subterminales. Picnidios no descritos. **Distribución:** Es una especie circumpolar antártica, que tiene su principal centro de distribución en la región de la Península Antártica y de las islas asociadas del Arco de Scotia. La especie es menos frecuente en la Antártida continental. También aparece en las islas subantárticas y es rara en los Andes de la Sudamérica más austral, así como a elevadas altitudes en Nueva Zelanda.

*Usnea aurantiaco-atra* (Jacq.) Bory.

**Caracteres morfológicos:** Talo de 5-8 cm generalmente (aunque puede variar entre 3 y 13 cm) que surge a partir de una base  $\pm$  pigmentada y delimitada o que raramente es proliferativa, erguido,  $\pm$  dicótomo, ampliamente ramificado en la parte superior con numerosas ramas que se estrechan progresivamente, rara vez con fibrilas. Ramas cilíndricas o raramente anguladas, de color amarillo claro que tiende ligeramente a verde, jaspeadas con bandas de un color violáceo en la parte superior, y en los ápices pigmentadas  $\pm$  continuamente. Cortex de grosor variable. Superficie mate,  $\pm$  lisa en la base, que se vuelve entre verrucosa-rugosa y subfoveolada-papilada, muy papilada o fuertemente foveolada en la parte superior. Medula compacta, de extensión variable, eje grueso que ocupa entorno al 0.5-0.6 del diámetro de la rama (llegando al 0.8). Soredios, pseudoisidios e isidios ausentes. Apotecios frecuentes, subterminales o raramente laterales,  $\pm$  en forma de copa, que se expanden en la madurez. Disco negro, excípulo verrucoso-papilado, margen  $\pm$  prominente, rayos raros. Picnidios infrecuentes hacia los ápices. **Distribución:** En la Antártida queda más o menos confinada a la costa oeste de la Península Antártica, las islas del Arco de Scotia (incluyendo Bouvetøya pero excluyendo las Islas Sandwich). Se extiende hasta la región subantártica de Sudamérica y las Islas Falkland. Esta especie no ocurre en la Antártida continental ni en Australasia.

*U. perpusilla* (Lamb.) FJ Walker.

**Caracteres morfológicos:** Talo de 5-10 cm generalmente (aunque puede variar entre 2-14 cm) que surge de una base raramente pigmentada proliferativa o que raramente está delimitada, erguido,  $\pm$  dicótomo, desde poco hasta muy ramificado en la parte superior. Ramificación con frecuencia divergente con laterales cortos, subcapilaceos, a veces brevemente atenuados entonces deflexos. Fibrilas muy raras. Ramas cilíndricas, de color amarillo claro que tiende ligeramente a verde,  $\pm$  jaspeadas con bandas de un color violáceo en la parte superior, y en los ápices pigmentadas  $\pm$  continuamente. Cortex de grosor variable. Superficie suave, de aspecto

de subnítido a ceroso, fracturas  $\pm$  incompletas, con frecuencia marcadamente foveolada, nunca verrucosa, raramente escábrida con diminutas papilas pigmentadas. Medula laxa, raramente sublaxa, eje fino ocupando 0.25-0.5 del diámetro de la rama. Soredios, pseudoisidios e isidios ausentes. Apotecios frecuentes, de 1-8 mm (y hasta 12 mm) de diámetro, laterales, subsésiles con frecuencia en serie, raramente subterminales con un espolón geniculado,  $\pm$  reniforme o irregular en la madurez. Disco negro, excípulo desde suave a foveolado-reticulado, margen fijo, con frecuencia  $\pm$  excluido, rayos raros. Picnidios raros.

**Distribución:** *U. perpusilla* está confinada a la Cordillera Andina en la parte más austral de Sudamérica. Aparece en Argentina y Chile desde Tierra del Fuego hacia el norte hasta la latitud de unos 37°. Es una especie característica alpina-austral que generalmente se encuentra a altitudes elevadas entre los 1000 y los 2000 m.

*Usnea subantarctica* F.J. Walker.

**Caracteres morfológicos:** Talo de 1.5-3.5 cm generalmente, que surge de una base raramente pigmentada proliferativa, erguido o raramente subdecumbente, moderadamente ramificado en la parte superior con ramas secundarias cortas,  $\pm$  divergentes, flexuosas, y que se estrechan progresivamente. Fibrilas  $\pm$  extensivas, esparcidas de forma irregular, que le dan un aspecto abierto, espinuloso o con forma de pompón. Ramas cilíndricas, de color amarillo claro que tiende ligeramente a verde,  $\pm$  continuamente pigmentadas de color negro hacia los ápices o jaspeadas con bandas de pigmento. Cortex fino. Superficie mate, conspicuamente escábrida con pequeñas papilas pigmentadas, Medula laxa o sublaxa, eje fino, que ocupa el 0.3-0.5 del diámetro de la rama. Soraliolos numerosos,  $\pm$  confinados a las ramas terminales, planos tendiendo a convexos, a pulvinados o nodulares, raramente marginados. Soredios granulares, con frecuencia parcialmente corticados y entonces pigmentados. Pseudoisidios raros, isidios ausentes. Apotecia raros, si están entonces como en *U. trachycarpa*. **Distribución:** *U.*

*subantártica* tiene una distribución similar a la de *U. aurantiaco-atra*, aunque está restringida en gran medida a la Península Antártica. Es rara en Sudamérica. La especie está ausente en la Antártida continental y en las islas del Arco de Scotia, aunque en el resto de las regiones subantárticas puede ser eventualmente encontrada.

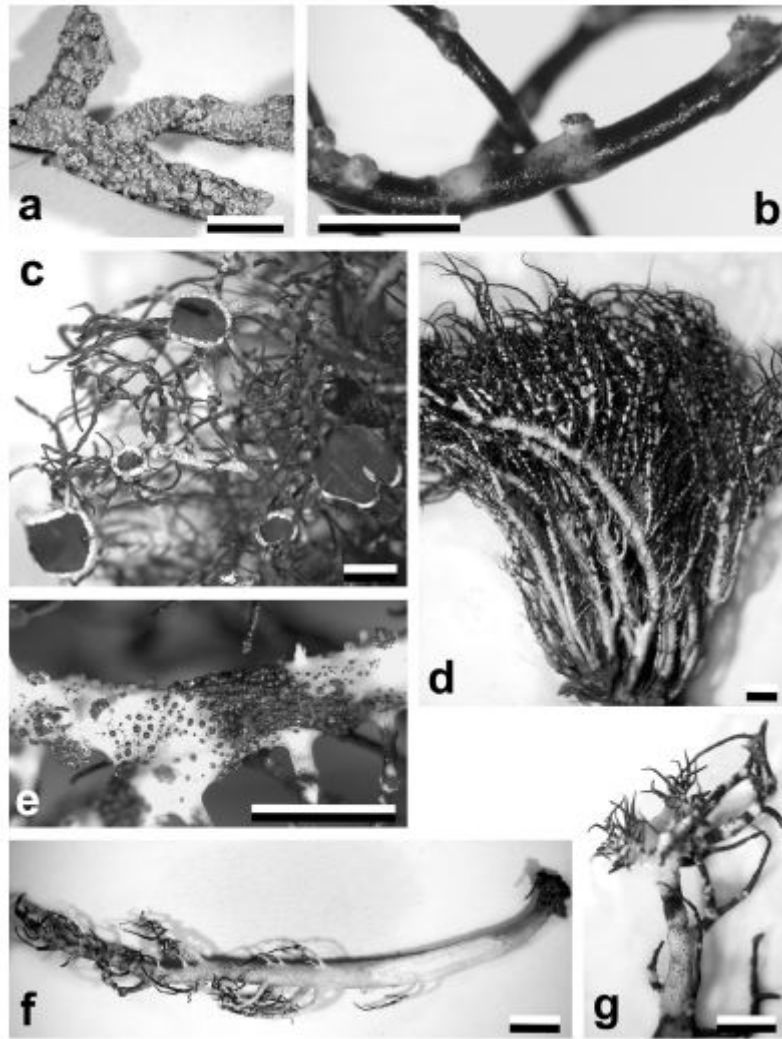
*Usnea trachycarpa* (Stirt.) Müll.Arg.

**Caracteres morfológicos:** Talo de unos 4 cm generalmente (aunque puede variar entre 2-9 cm), que surge de una base no pigmentada proliferativa, erguido, monopódico o  $\pm$  dicótomo, moderadamente o poco ramificado en la parte superior. Fibrilas numerosas en todas las ramas, cortas de unos 5 mm,  $\pm$  jaspeadas o continuamente pigmentadas en color negro. Ramas cilíndricas o raramente ligeramente anguladas, color amarillo claro que tiende ligeramente a verde, más o menos continuamente pigmentadas hacia los ápices. Cortes de grosor variable. Superficie mate,  $\pm$  suave en la base que se vuelve marcadamente foveolado hasta abundantemente papilado o escábrido con numerosas fibrilas conspicuas en la parte superior. Medula laxa o sublaxa, eje que ocupa el 0.3-0.5 del diámetro de la rama. Soredios pseudoisidios y isidios ausentes. Apotecios frecuentes, subterminales,  $\pm$  en forma de copa, que se expanden en la madurez. Disco marrón anaranjado, excípulo de foveolado a verrucoso-papilado con numerosos rayos pigmentados que se estrechan progresivamente. Picnidios infrecuentes y hacia los ápices. **Distribución:** *U. trachycarpa* se ha descrito en la zona austral de Sudamérica (Patagonia y Tierra del Fuego) llegando hacia el norte hasta los 42 °S, y en las Islas Falkland y Kerguelen.

### 3. Aportaciones de Wirtz y colaboradores

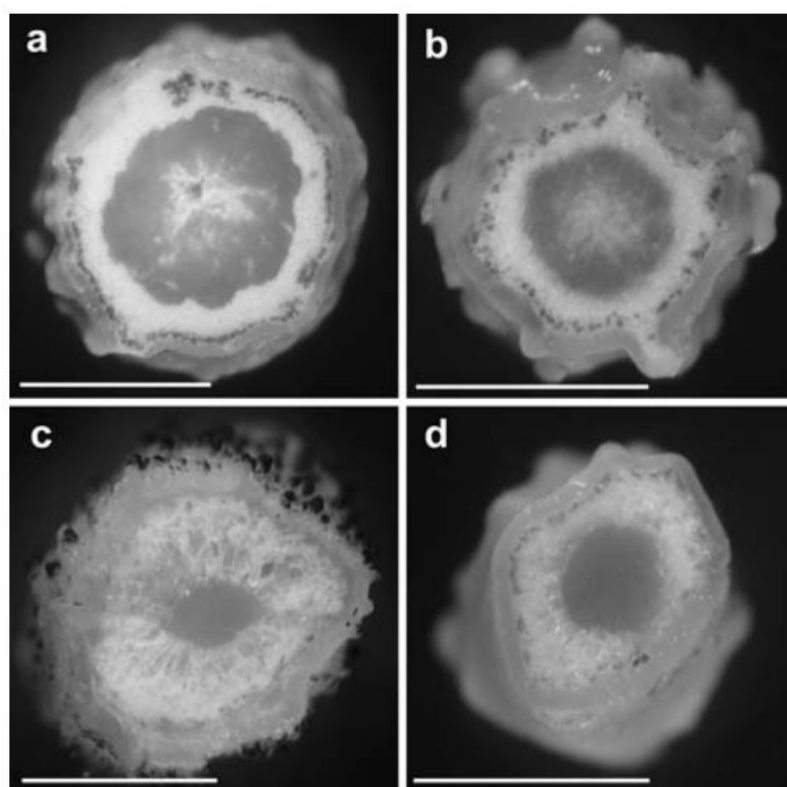
En una primera aproximación Wirtz y colaboradores revisaron la filogenia de los líquenes usneoides de pigmentación oscura, mediante el uso del marcador molecular ITS (Wirtz *et al.* 2006) sobre 12 de las 15 especies descritas por Walker (1985). De este modo comprobaron el origen polifilético del grupo, y procedieron a sinonimizar *Neuropogon* con *Usnea*. Lo que observaron en este trabajo era que había un grupo principal que incluía once especies (*U. aurantiaco-atra*, *U. antarctica*, *U. acromelana*, *U. subantarctica*, *U. trachycarpa*, *U. sphacelata*, *U. perpusilla*, *U. perpusilla cf.*, *U. patagonica*, *U. subcapillaris*, *U. ciliata*) y otras tres especies que quedarían fuera del grupo principal (*U. acanthella*, *U. durietzii*, y *U. sp.*, una especie no identificada procedente de Perú).

Posteriormente se realizó una revisión morfológica de las cuatro especies de *Usnea* presentes en la Península Antártica y las Islas Falkland (Seymour *et al.* 2007): *U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*, *U. sphacelata* y *U. subantarctica*, complementada con el análisis de dos marcadores moleculares (ITS y RPB1). Después de estudiar diversos caracteres morfológicos (características del apotecio, tipos de ornamentación del cortex, anatomía, pigmentación, etcétera) concluyeron que ninguno de ellos por si solo servía como carácter identificativo de una sola especie (**Figura 1**). Por otro lado, el grosor del cordón axial en relación al diámetro de la rama, resultó ser informativo para la identificación de linajes monofiléticos dentro del grupo (**Figura 2**).



**Figura 1.** Atributos morfológicos típicos de algunas especies de líquenes del grupo Neuropogon (género *Usnea*). Talo de *Usnea antarctica* con papilas y (a) soracios planos y (b) soracios marginados; (c) talo de *Usnea aurantiaco-atra* con apotecios negros; (d) aspecto del talo típico de *U. sphacelata*; (e) detalle de pequeñas papilas con pigmentación negra y soracios emergentes; (f) aspecto típico de una lacinia de *U. subantártica* sorediada; y (g) detalle de un espécimen fértil con pequeñas papilas pigmentadas. Escala de referencia = 5 mm. Imagen elaborada a partir de Seymour *et al.* 2007.

Seguidamente, Wirtz y colaboradores ampliaron sus estudios sobre el grupo Neuropogon a través del análisis de varios marcadores moleculares (ITS, IGS, y RPB1) y del método de cohesión para el reconocimiento de especies, que combina la aproximación molecular y el estudio de caracteres morfológicos (Wirtz *et al.* 2008; 2012; Lumbsch & Wirtz 2011). De este modo detectaron: (1) la necesidad de describir nuevas especies; (2) la existencia de pares de especies con flujo genético entre ellas; y (3) la existencia de complejos que agrupaban diversos linajes asexuales entorno a una especie fértil.



**Figura 2.** Sección transversal de las ramas principales de algunas especies de *Usnea* del grupo Neuropogon. (a) *Usnea aurantiaco-atra*; (b) *Usnea antarctica*; (c) *Usnea subantarctica*; y (d) *Usnea sphacelata*. La proporción del diámetro de la rama ocupado por el cordón axial era de 61%, 56%, 27%, y 39% respectivamente. Escala de referencia = 1mm. Imagen elaborada a partir de Seymour *et al.* 2007.

### 3.1 Nuevas especies descritas por Wirtz y colaboradores

Las nuevas especies descritas por Wirtz y colaboradores se recopilan por primera vez a continuación. Aunque tan solo una de ellas (*U. ushuaiensis*) ha formado finalmente parte del presente trabajo, se incluyeron aquí todas sus descripciones, ya que en todos los casos su distribución se restringe o incluye la región más austral de Sudamérica, y por tanto potencialmente se podían haber encontrado en el área de estudio.

- *U. lambii* (Imshaug) Wirtz & Lumbsch. **Caracteres identificativos:** Talo fruticoso, de 1.5-5.0 cm de altura, erguido. Base pigmentada. Ramas alargadas,  $\pm$  ahorquilladas, de ramificación  $\pm$  dicótoma y regular, de sección transversal circular, jaspeadas con

bandas negras, con frecuencia completamente pigmentadas en el extremo. Fibrilas generalmente ausentes. Cortex de grosor variable. Superficie de brillante a mate, de aspecto ceroso, raramente foveolado, lisa, papilas pigmentadas raras, ocasionalmente con anulaciones. Medula laxa, cordón axial fino inferior al 0.5 del diámetro de la rama. Soralios  $\pm$  pigmentados, numerosos, de planos a convexos o tuberculados en la madurez, que se vuelven más anchos que la rama, frecuentemente con isidiomorfos pigmentados. Apotecios muy raros de color  $\pm$  oscuro. **Distribución:** Se ha descrito en el noroeste de Norte América, en los Andes, en Sudamérica Austral, así como en Nueva Zelanda y en la Antártida circumpolar. Por tanto distribución bipolar. **Fuentes:** Inicialmente este taxón se identificó en Wirtz *et al.* 2008, en el análisis del complejo entorno a *U. perpusilla*. La especie se describe finalmente en Lumbsch & Wirtz 2011.

- *U. messutiae* Wirtz & Lumbsch. **Descripción:** Talo de unos 3-4 cm de altura, que surge de una base generalmente no pigmentada y proliferativa, erguido, abundantemente ramificado, normalmente con una rama principal más gruesa que eventualmente se bifurca en el extremo. Superficie del talo de color amarillo claro ligeramente verde, foveolada, raramente lisa. Ramas principales no pigmentadas, ramas laterales no pigmentadas o escasamente jaspeadas con bandas de pigmentación negra o completamente pigmentadas. Anulaciones del córtex comunes, a veces pigmentadas. Fibrilas frecuentes de no pigmentadas a pigmentadas, papilas raras. Medula densa. Cordón axial grueso, entorno al 0.5 del diámetro de la rama (que puede oscilar entre el 0.3 y el 0.6). Soralios punctiformes, semiesféricos, convexos, que se fusionan, que se forman generalmente en el extremo de ramas laterales y a partir de cicatrices de fibrilas. Isidiomorfos oscuros frecuentes, que en ocasiones crecen como estructuras con aspecto de fibrilas dentro de soralios. **Distribución:** Sudamérica austral y ecuatorial. **Fuentes:** Inicialmente este taxón se identificó en Wirtz *et al.* 2008, en el



análisis del complejo entorno a *U. perpusilla*. Finalmente, la especie se describe en Lumbsch & Wirtz 2011.

- *U. pallidocarpa* Wirtz & Lumbsch. **Descripción:** Talo de 5-7 cm, que surge de una base proliferativa no pigmentada o marrón, erguido, de dicótomo a abundantemente ramificado. Ramas cilíndricas. Superficie del talo lisa, brillante, escasamente foveolada, ramas principales no pigmentadas, ramas laterales  $\pm$  jaspeadas con bandas de pigmentación negra. Anulaciones en el córtex presentes, ausencia de papilas, fibrilas muy raras. Medula densa. Eje grueso entorno al 0.5 del diámetro de la rama (pero que puede ir del 0.3 al 0.7). Soredios e isidiomorfos no descritos. Apotecios frecuentes, subterminales, raramente terminales, ocasionalmente en series, cupulares, que se vuelven principalmente planos en la madurez. Disco de color desde amarillo claro a marrón, a veces con manchas negras u oscuras. Excípulo suave, margen del apotecio fino, con pocos rayos. **Distribución:** Sudamérica austral. **Fuentes:** Inicialmente este taxón se identificó en Wirtz *et al.* 2008, en el análisis del complejo entorno a *U. perpusilla*. Finalmente, la especie se describe en Lumbsch *et al.* 2011.
- *U. ushuaiensis* (I.M. Lamb) Wirtz, Printzen & Lumbsch. **Caracteres identificativos:** Apotecios con disco de color negro. Córtex liso, ausencia de foveolas. Cordón axial fino de anchura inferior al 0.5 del diámetro de la rama, medula laxa. **Distribución:** Sudamérica austral. **Fuentes:** La especie se describe en Wirtz *et al.* 2008. Hasta entonces los individuos de esta especie se habían identificado erróneamente como ejemplares de *U. perpusilla*, especie con la cual efectivamente resultó estar filogenéticamente agrupada en el mismo complejo.

### 3.2 Pares de especies y posibles casos de sinonimia detectados por Wirtz y colaboradores

El término “par de especies” actualmente se utiliza cuando se comprueba, mediante análisis filogenéticos, que dos especies de líquen tradicionalmente diferenciadas en base a su modo de dispersión (sexual / asexual), resultan ser indistinguibles desde el punto de vista molecular. Es el caso del par de especies *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, de reproducción sexual y asexual respectivamente, pero molecularmente indistinguibles (Wirtz *et al.* 2012). Sin embargo, los autores de dicho hallazgo no procedieron a realizar un cambio nomenclatural del par de especies a un solo taxón, posponiéndolo hasta una revisión integral del grupo *Neuropogon*. En la presente tesis doctoral se analiza este par de especies en profundidad, desde el punto de vista ecofisiológico, en el **Capítulo 2**. Por otro lado, también se ha señalado un posible caso de sinonimia entre las especies *U. trachycarpa* y *U. subantarctica*, aunque en este caso la relación filogenética entre ellas no está tan clara (Wirtz *et al.* 2012). Tradicionalmente estas dos especies se distinguían, a priori, por la presencia o ausencia de soralios. Los estudios moleculares han revelado la existencia de dos linajes filogenéticos, entre los cuales podría haber flujo genético. Así mismo, los análisis de delimitación de especies no han permitido definir unos caracteres morfológicos para distinguirlas, y su modo de reproducción ha resultado ser más variable de lo que se pensaba, ya que ambos linajes pueden presentar ambos modos de reproducción, por lo que el uso del término par de especies inicialmente descrito tampoco encajaría en este caso. Los autores sugieren muestreos adicionales para dilucidar si estas dos especies constituyen finalmente en uno o dos linajes. En la presente tesis doctoral, a efectos prácticos, se han considerado como un mismo taxón, aunque a lo largo de la misma se mantiene la terminología vigente, mediante la denominación conjunta de *U. trachycarpa* / *U. subantarctica*.

### 3.3 Complejos de especies dentro del grupo Neuropogon

Lumbsch & Wirtz (2011) detectaron hasta cuatro complejos de especies dentro del grupo de Neuropogon, es decir, grupos monofiléticos mas o menos bien respaldados que incluyen dos o tres especies filogenéticamente más próximas. Las agrupaciones son las siguientes:

- *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica* + *U. acromelana*
- *U. trachycarpa* / *U. subantarctica* + *U. sphacelata*
- *U. perpusilla* + *U. ushuaiensis* + *U. lambii*
- *U. messutiae* + *U. pallidocarpa*

Todas estas especies son monofiléticas (excepto el par *U. trachycarpa* / *U. subantarctica* que es parafilético) y se agrupan en un núcleo dentro del grupo Neuropogon. Por otro lado, *U. ciliata* y *U. subcapillaris* forman un linaje bien respaldado. Finalmente, *U. patagónica* es la primera especie en separarse, pero no tiene respaldo suficiente. En este punto, debe tenerse presente que hasta la fecha cinco de las especies descritas por Walker no se han incluido en los análisis, como son: *U. acanthella*, *U. duriezzi*, *U. neuropogonoides*, *U. pseudocapillaris* y *U. taylorii*, las tres primeras de la región austral de Sudamérica, y las dos últimas en la región de Australasia. Futuros estudios que las incluyan serán por tanto necesarios para poder concluir las propuestas de delimitación de especies aquí recogidas.

### 4. Selección de caracteres morfológicos para el caso de estudio de Livingston y Navarino.

Dada la variabilidad morfológica del grupo (Seymour *et al.* 2007) se planteó la necesidad de establecer el modo de identificar de forma más o menos rápida y fiable las distintas especies, al menos localmente, de cara al resto de capítulos de la tesis doctoral (estudios de cobertura,

fisiología, etc.) o para futuros estudios en la zona. Una vez confirmada la identidad molecular de las muestras, se procedió a recopilar sus principales características morfológicas y anatómicas. Los caracteres más informativos fueron: el grosor del cordón axial (mayor, igual o menor que el 50% del grosor total de la lacinia o rama); la textura de la medula (compacta o laxa); la ornamentación del córtex (mediante papilas, fibrilas, grietas o foveolas); y el aspecto de los apotecios (color del disco, ornamentación del excípulo) o de los soracios (tan solo observados en *U. antarctica*, ausentes en el resto).

Las secuencias de ITS del hongo se agruparon en cinco nodos que coincidieron con cinco especies “moleculares” de *Usnea* según las circunscripciones de Wirtz *et al.* (2012): *U. acromelana*, el par *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, *U. subantarctica*, *U. trachycarpa*, and *U. ushuaiensis*. Este resultado complementa nuestros análisis morfológicos previos basados en Walker (1985), en los cuales nuestras muestras se habían identificado como las siguientes cuatro especies: *U. antarctica*, *U. aurantiaco-atra*, *U. perpusilla* y *U. trachycarpa*. Sin embargo, después de los análisis filogenéticos, las siguientes rectificaciones fueron necesarias. : (1) Las dos primeras especies, *U. antarctica* y *U. aurantiaco-atra*, resultaron ser idénticas desde el punto de vista molecular; (2) Lo que en base a la clave de Walker (1985) se identificó como *U. perpusilla*, pertenecía a las especies *U. ushuaiensis* y *U. acromelana*; y (3) *U. trachycarpa* ha resultado ser morfológicamente indistinguible de *U. subantártica*, y todavía no está claro si estos dos taxones son sinónimos o no.

Más allá de la problemática de la circunscripción de las especies, a continuación se plantea, a modo de clave sencilla, la combinación de caracteres morfológicos que mejor reflejaban, al menos localmente, cada uno de los linajes moleculares (**Tabla C1**). El par *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica* se distinguió por los siguientes caracteres: grosor del cordón axial superior al 0.5 del diámetro de la lacinia; medula compacta; presencia de abundantes papilas en el córtex; y

presencia o bien de apotecios de disco negro y excípulo papilado, o bien de soracios de borde bien definido entre crateriformes y pulviniformes. La especie *U. acromelana* se distinguió por los siguientes caracteres: grosor del cordón axial igual o superior al 0.5 del diámetro de la lacinia; medula compacta; presencia de foveolas y grietas en el córtex; y presencia de apotecios de disco negro y excípulo entre suave y foveolado. La especie *U. ushuaiensis* se distinguió por los siguientes caracteres: grosor del cordón axial inferior al 0.5 del diámetro de la lacinia; medula laxa; superficie del córtex lisa y mate con micropapilas y grietas ocasionalmente; apotecios de disco negro y con rayos excipulares más o menos frecuentes. Finalmente, las especies *U. trachycarpa* y *U. subantarctica* se distinguieron del resto por los siguientes caracteres: grosor del cordón axial variable; presencia de fibrilas y/o papilas en el córtex; y apotecios de disco naranja o marrón oscuro con rayos frecuentes.

**Tabla 1.** Síntesis de los principales caracteres morfológicos y anatómicos observados en los distintos linajes moleculares identificados en Isla Navarino (*U. acromelana*, *U. aurantiaco-atra* / *U. antarctica*, *U. subantarctica*, *U. trachycarpa* and *U. ushuaiensis*) y mediante los que se diferenciaban localmente.

	<i>Usnea aurantiaco-atra / U. antarctica</i>	<i>Usnea acromelana</i>	<i>Usnea ushuaiensis</i>	<i>Usnea trachycarpa</i>	<i>Usnea subantarctica</i>
<b>Grosor del cordón axial</b>	Claramente grueso. De diámetro superior al 0.5 del de la lacinia.	Generalmente grueso. De diámetro igual o superior al 0.5 del de la lacinia.	Claramente fino. De diámetro inferior al 0.5 del de la lacinia.	Generalmente fino pero bastante variable. En ocasiones su diámetro supera el 0.5 del de la lacinia.	Generalmente fino pero bastante variable. En ocasiones su diámetro supera el 0.5 del de la lacinia.
<b>Textura de la médula</b>	Fina y compacta	Fina y compacta	Claramente laxa, de grosor similar al cordón axial.	Variable. Generalmente laxa.	Variable. Generalmente laxa.
<b>Ornamentaci ón del córtex</b>	Verrucoso. Con abundantes papilas.	Foveolas y/o anulaciones evidentes. Papilas ausentes.	Superficie suave y mate. Fracturas escasas. Micropapilas ocasionales.	Fibrilas y/o papilas abundantes.	Fibrilas y/o papilas abundantes.
<b>Soralios</b>	Planos discretos, con borde crateriformes marcados. Generalmente aparecen en ausencia de apotecios.	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<b>Apotecios</b>	Generalmente presentes en ausencia de soralios.	Generalmente presentes.	Generalmente presentes.	Generalmente presentes.	Generalmente presentes.
<b>Coloración del disco</b>	Negro	Negro	Negro	Anaranjado o marrón	Anaranjado o marrón
<b>Rayos excipulares</b>	Raros o ausentes	Raros o ausentes	Presentes, en cantidad variable	Presentes y abundantes	Presentes y abundantes
<b>Cortex excipular</b>	Ornamentado con papilas	Variable. Entre liso y foveolado	Variable. Entre liso y foveolado	Variable.	Variable.

## 5. Glosario breve de terminología botánica

- Aeruginoso: de color cobrizo, verdeazulado.
- Apotecio: cuerpo fructífero propio de los líquenes, consistente en un ascocarpo aplanado, con forma de disco generalmente y abierto en la madurez, cuyo fin es la reproducción sexual.
- Asco: estructura en forma de saco que contiene las ascosporas.
- Ascósporas: esporas de origen sexual en los hongos ascomicetes.
- Cifela: estructura en forma de poro que facilita el intercambio gaseoso entre la medula y el exterior del liquen, cubierta por su interior con una capa de células características.
- Claviforme: con forma de porra o maza, más ancho en el extremo.
- Coccoide: relativo a microorganismos de forma esférica.
- Conidio: espora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa esporógena, el conidióforo.
- Corticado: provisto de corteza externa.
- Decumbente: postrado.
- Deflexo: encorvado hacia la parte inferior.
- Dicótomo: tipo de crecimiento o ramificación en el que cada rama se divide sucesivamente en dos equivalentes, de manera que se produce una horquilla de ramas iguales.
- Disco del apotecio: parte superior del cuerpo fructífero, consistente en la superficie expuesta del himenio.
- Epitecio: parte superior del himenio.
- Escábrido: áspero al tacto, cubierto de pelos cortos y tiesos.
- Espinuloso: provisto de pequeñas espinas.
- Excípulo: capa de tejido estéril adyacente al himenio y al hipotecio.

- Fastigiado: con las hifas agrupadas en paralelo.
- Foveola: cavidad o alveolo.
- Foveolado: superficie con cavidades o de aspecto alveolado.
- Fibrilas: pequeña prominencia en forma de pelo o fibrilla.
- Flexuoso: torcido o doblado, con los dobleces dispuestos alternamente en sentidos opuestos.
- Geniculado: doblado, con forma de codo o rodilla.
- Hialino: incoloro, translucido.
- Himenio: capa fértil de un cuerpo fructífero formada por ascos, paráfisis y ascosporas.
- Isidio: protuberancias de pequeño tamaño, corticadas, de forma variable (verrugosa, cilíndrica, digitiforme, coraloide, ramificada) y que contiene ambos componentes del liquen, es decir, algas mezcladas con hifas del hongo, y cuyo fin es la reproducción vegetativa del liquen.
- Lageniforme: con forma de garrafa.
- Laxo: poco denso, poco espeso.
- Lecanorino: tipo de apotecio rodeado de un borde talino, es decir con córtex y fotobiontes.
- Marginado: con un borde claramente definido.
- Monopódico: tipo de crecimiento o ramificación que se compone de un eje principal en cuya zona apical perdura el crecimiento vegetativo y a cuyos lados crecen ramas secundarias.
- Nítido: brillante, luminoso.
- Papila: pequeña prominencia semiesférica.
- Paráfisis: hifas estériles que se encuentran entre los ascos en el apotecio.
- Paraplecténquima: talo compuesto por células isodiamétricas, con aspecto de parénquima.



- Proliferativo: que se multiplica abundantemente, que produce brotes o tallos.
- Pruinoso: con un revestimiento o cutícula de aspecto harinoso, cérea, tenue, blanquecina, formada por pequeños gránulos.
- Pseudocifela: estructura en forma de poro similar a las cifelas que facilita el intercambio gaseoso entre la medula y el exterior del liquen, donde la medula queda expuesta.
- Pseudoisidio: sorolio elongado y parcialmente corticado con aspecto de isidio.
- Pseudoparénquima: talo compuesto por células isodiamétricas, con aspecto de parénquima.
- Pulvinado: que tiene forma de almohadilla.
- Saxícola: que crece sobre roca o piedras.
- Sorolio: Interrupciones del córtex de aspecto pulverulento en las que se forman y agrupan los soledios.
- Soledio: propágulo microscópico decorticado formado por un grupo poco estructurado de los componentes de un liquen, es decir, algas mezcladas con hifas del hongo, y cuyo fin es la reproducción vegetativa del mismo.
- Tecio: tejido fértil del apotecio o himenio.
- Terminal: que está en el extremo de cualquier parte de la planta.
- Verrucoso: de superficie irregular, llena de imperfecciones.

## **ANEXO B.**

### **Inventario de secuencias utilizadas en los estudios filogenéticos del Capítulo I.**



El presente apartado se detalla mediante varios listados las secuencias de referencia, de micobionte y de fotobionte que se analizaron en el **Capítulo 1**. En la Tabla B1 se incluyeron aquellas secuencias utilizadas como referencia en la elaboración de las redes de haplotipos de ambos biontes; en la **Tabla B2** se presenta un inventario de las muestras a partir de las cuales se obtuvieron las secuencias de micobionte analizadas; y en la **Tabla B3** se presenta un inventario de las muestras a partir de las cuales se obtuvieron las secuencias de fotobionte analizadas.

**Tabla B1.** Listado de las 28 secuencias de referencia (5 de alga y 23 de hongo) descargadas de la base de datos GenBank® e incluidas en las redes de haplotipos del hongo y del alga para determinar la identidad de los distintos taxones encontrados en este trabajo.

Código de referencia en este trabajo	Taxón	Artículo en que se publicó la secuencia	Localidad de procedencia de la muestra	Código de referencia de herbario	Código de referencia de GenBank®
Tr1	<i>Trebouxia jamesii</i>	Ruprecht 2012	Austria, Osttirol, Hohe Tauern	Tuerk 42730	JN204768.1
Tr2	<i>Trebouxia jamesii</i>	Ruprecht 2012	Norway, Svalbard	Tuerk 43426	JN204793.1
Tr3	<i>Trebouxia jamesii</i>	Ruprecht 2012	Antarctica, Ellsworth Mountains	Convey 1173	JN204833.1
Tr4	<i>Trebouxia jamesii</i>	Ruprecht 2012	Antarctica, Darwin Area, Diamond Hills	Tuerk 44688	JN204807.1
Tr5	<i>Trebouxia sp. URa11</i>	Ruprecht 2014	Austria, Hochtor	Tuerk 51479	KF907567.1
Ur1	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Margerite Bay, Adelaide Isl.	USAUN 0976	JQ314812.1
Ur2	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Margerite Bay, Leonie Isl.	USAUN 1111	JQ314814.1
Ur3	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Livingston Island	USAUN 1282	JQ314833.1
Ur4	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Livingston Island	USAUN 1336	JQ314834.1
Ur5	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Livingston Island	USAUN 1351	JQ314835.1
Ur6	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Livingston Island	USAUN 1354	JQ314836.1
Ur7	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Livingston Island	USAUN 1258	JQ314832.1
Ur8	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2006	Antarctica, Livingston Island	124-1	EF179799.1
Ur9	<i>Usnea antarctica</i>	Wirtz 2006	Antarctica, Livingston Island	137-2	EF179795.1
Ur10	<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	Wirtz 2006	Antarctica, Livingston Island	124-4	DQ235521.1
Ur11	<i>Usnea antarctica</i>	Wirtz 2006	Tierra del Fuego, Lapataia Bay	148-1	EF179796.1

Código de referencia en este trabajo	Taxón	Artículo en que se publicó la secuencia	Localidad de procedencia de la muestra	Código de referencia de herbario	Código de referencia de GenBank®
<b>Ur12</b>	<i>Usnea acromelana</i>	Wirtz 2011	Tierra del Fuego, Glacier Martial.	USSPN 1754	JQ314849.1
<b>Ur13</b>	<i>Usnea ushuaiensis</i>	Wirtz 2008	Tierra del Fuego, Lapataia Bay	235-11	EF492146.1
<b>Ur14</b>	<i>Usnea ushuaiensis</i>	Wirtz 2008	Tierra del Fuego, Glacier Martial.	180-1	EF492170.1
<b>Ur15</b>	<i>Usnea trachycarpa</i>	Wirtz 2011	Tierra del Fuego, Glacier Martial.	USTRN 1821	JQ314753.1
<b>Ur16</b>	<i>Usnea trachycarpa</i>	Wirtz 2011	Argentinien, Santa Cruz, Monte Aymond	USTRN 1962	JQ314760.1
<b>Ur17</b>	<i>Usnea trachycarpa</i>	Wirtz 2011	Tierra del Fuego, Lapataia Bay	USSCN 2371	JQ314703.1
<b>Ur18</b>	<i>Usnea trachycarpa</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Margerite Bay, Leonie Isl.	USSPN 1622	JQ314730.1
<b>Ur19</b>	<i>Usnea trachycarpa</i>	Wirtz 2011	Argentinien, Santa Cruz, Monte Aymond	USTRN 1868	JQ314756.1
<b>Ur20</b>	<i>Usnea trachycarpa</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Alexander Island, Coal Nunatak	USSPN 1021	JQ314716.1
<b>Ur21</b>	<i>Usnea subantarctica</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Margerite Bay, Lagoon Island	USTRN 2641	JQ314764.1
<b>Ur22</b>	<i>Usnea subantarctica</i>	Wirtz 2011	Antarctica, Alexander Island, Mars Oasis	USSPN 2911	JQ314750.1
<b>Ur23</b>	<i>Usnea subantarctica</i>	Wirtz 2011	Tierra del Fuego, Lapataia Bay	USTRN 2342	JQ314763.1

**Tabla B2.** Inventario de los 313 especímenes según su identificación de recolección (ID recolección) a partir de los cuales se obtuvieron los haplotipos de micobionte, y detalles de su localidad de origen y de su número identificativo de extracción (ID extracción). Los especímenes se encuentran almacenados en el departamento de Biología Vegetal II de la Universidad Complutense de Madrid.

	ID Recolección	Localidad	ID Extracción	Bionte
001	1A_01	Livingston	C070	Micobionte
002	1A_02	Livingston	C071	Micobionte
003	1A_03	Livingston	C072	Micobionte
004	1A_04	Livingston	C073	Micobionte
005	1A_05	Livingston	C074	Micobionte
006	1A_06	Livingston	C075	Micobionte
007	1A_07	Livingston	C076	Micobionte
008	1A_08	Livingston	C077	Micobionte
009	1A_09	Livingston	C078	Micobionte

	ID Recolección	Localidad	ID Extracción	Bionte
010	1A_10	Livingston	C079	Micobionte
011	1A_12	Livingston	C081	Micobionte
012	1A_13	Livingston	C082	Micobionte
013	1A_14	Livingston	C083	Micobionte
014	1B_05	Livingston	C373	Micobionte
015	1B_07	Livingston	C374	Micobionte
016	1B_08	Livingston	C375	Micobionte
017	1B_09	Livingston	C376	Micobionte
018	1B_11	Livingston	C377	Micobionte
019	1B_12	Livingston	C378	Micobionte
020	1B_13	Livingston	C379	Micobionte
021	1B_14	Livingston	C380	Micobionte
022	1B_15	Livingston	C381	Micobionte
023	1B_16	Livingston	C382	Micobionte
024	2A_01	Livingston	C084	Micobionte
025	2A_02	Livingston	C085	Micobionte
026	2A_03	Livingston	C086	Micobionte
027	2A_04	Livingston	C087	Micobionte
028	2A_05	Livingston	C088	Micobionte
029	2A_06	Livingston	C089	Micobionte
030	2A_07	Livingston	C090	Micobionte
031	2A_08	Livingston	C091	Micobionte
032	2A_09	Livingston	C092	Micobionte
033	2A_10	Livingston	C093	Micobionte
034	2A_11	Livingston	C094	Micobionte
035	2A_12	Livingston	C095	Micobionte
036	2B_01	Livingston	C383	Micobionte
037	2B_02	Livingston	C384	Micobionte
038	2B_04	Livingston	C386	Micobionte
039	2B_05	Livingston	C387	Micobionte
040	2B_06	Livingston	C388	Micobionte
041	2B_09	Livingston	C389	Micobionte
042	2B_10	Livingston	C390	Micobionte
043	2B_12	Livingston	C392	Micobionte
044	2B_13	Livingston	C393	Micobionte
045	2B_14	Livingston	C394	Micobionte
046	3A_01	Livingston	C096	Micobionte
047	3A_02	Livingston	C097	Micobionte
048	3A_03	Livingston	C098	Micobionte
049	3A_04	Livingston	C099	Micobionte
050	3A_05	Livingston	C100	Micobionte
051	3A_06	Livingston	C101	Micobionte
052	3A_07	Livingston	C102	Micobionte
053	3A_08	Livingston	C103	Micobionte

	ID Recolección	Localidad	ID Extracción	Bionte
054	3A_09	Livingston	C104	Micobionte
055	3A_10	Livingston	C105	Micobionte
056	3A_11	Livingston	C106	Micobionte
057	3A_12	Livingston	C107	Micobionte
058	3A_13	Livingston	C108	Micobionte
059	3A_14	Livingston	C109	Micobionte
060	3A_15	Livingston	C110	Micobionte
061	3B_01	Livingston	C133	Micobionte
062	3B_02	Livingston	C134	Micobionte
063	3B_03	Livingston	C135	Micobionte
064	3B_04	Livingston	C136	Micobionte
065	3B_05	Livingston	C137	Micobionte
066	3B_07	Livingston	C139	Micobionte
067	3B_08	Livingston	C140	Micobionte
068	3B_09	Livingston	C141	Micobionte
069	3B_10	Livingston	C142	Micobionte
070	3B_11	Livingston	C143	Micobionte
071	3B_12	Livingston	C144	Micobionte
072	3B_13	Livingston	C145	Micobionte
073	3B_14	Livingston	C146	Micobionte
074	3B_15	Livingston	C147	Micobionte
075	3B_16	Livingston	C148	Micobionte
076	4A_01	Livingston	C149	Micobionte
077	4A_02	Livingston	C150	Micobionte
078	4A_03	Livingston	C151	Micobionte
079	4A_04	Livingston	C152	Micobionte
080	4A_05	Livingston	C153	Micobionte
081	4A_06	Livingston	C154	Micobionte
082	4A_07	Livingston	C155	Micobionte
083	4A_08	Livingston	C156	Micobionte
084	4A_09	Livingston	C157	Micobionte
085	4A_10	Livingston	C158	Micobionte
086	4B_01	Livingston	C159	Micobionte
087	4B_04	Livingston	C162	Micobionte
088	4B_05	Livingston	C163	Micobionte
089	4B_07	Livingston	C165	Micobionte
090	4B_09	Livingston	C167	Micobionte
091	4B_10	Livingston	C168	Micobionte
092	4B_11	Livingston	C169	Micobionte
093	4B_12	Livingston	C170	Micobionte
094	4B_13	Livingston	C171	Micobionte
095	4B_14	Livingston	C172	Micobionte
096	4B_15	Livingston	C173	Micobionte
097	4B_16	Livingston	C174	Micobionte

	ID Recolección	Localidad	ID Extracción	Bionte
098	5A_01	Livingston	C191	Micobionte
099	5A_02	Livingston	C192	Micobionte
100	5A_03	Livingston	C193	Micobionte
101	5A_04	Livingston	C194	Micobionte
102	5A_05	Livingston	C195	Micobionte
103	5A_06	Livingston	C196	Micobionte
104	5A_07	Livingston	C197	Micobionte
105	5A_08	Livingston	C198	Micobionte
106	5A_09	Livingston	C199	Micobionte
107	5A_11	Livingston	C201	Micobionte
108	5A_12	Livingston	C202	Micobionte
109	5A_14	Livingston	C204	Micobionte
110	5A_15	Livingston	C205	Micobionte
111	5A_16	Livingston	C206	Micobionte
112	5A_17	Livingston	C207	Micobionte
113	5B_01	Livingston	C175	Micobionte
114	5B_02	Livingston	C176	Micobionte
115	5B_04	Livingston	C178	Micobionte
116	5B_05	Livingston	C179	Micobionte
117	5B_06	Livingston	C180	Micobionte
118	5B_07	Livingston	C181	Micobionte
119	5B_09	Livingston	C183	Micobionte
120	5B_10	Livingston	C184	Micobionte
121	5B_12	Livingston	C186	Micobionte
122	5B_13	Livingston	C187	Micobionte
123	5B_14	Livingston	C188	Micobionte
124	5B_15	Livingston	C189	Micobionte
125	5B_16	Livingston	C190	Micobionte
126	6A_01	Livingston	C208	Micobionte
127	6A_03	Livingston	C210	Micobionte
128	6A_04	Livingston	C211	Micobionte
129	6A_07	Livingston	C214	Micobionte
130	6A_08	Livingston	C215	Micobionte
131	6A_09	Livingston	C216	Micobionte
132	6A_10	Livingston	C217	Micobionte
133	6B_01	Livingston	C218	Micobionte
134	6B_02	Livingston	C219	Micobionte
135	6B_03	Livingston	C220	Micobionte
136	6B_04	Livingston	C221	Micobionte
137	6B_05	Livingston	C222	Micobionte
138	6B_06	Livingston	C223	Micobionte
139	6B_07	Livingston	C224	Micobionte
140	6B_08	Livingston	C225	Micobionte
141	6B_09	Livingston	C226	Micobionte



	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte</b>
142	6B_10	Livingston	C227	Micobionte
143	7A_03	Livingston	C396	Micobionte
144	7A_04	Livingston	C397	Micobionte
145	7A_05	Livingston	C398	Micobionte
146	7A_06	Livingston	C399	Micobionte
147	7A_08	Livingston	C401	Micobionte
148	7A_09	Livingston	C402	Micobionte
149	7A_11	Livingston	C404	Micobionte
150	7A_12	Livingston	C405	Micobionte
151	7A_13	Livingston	C406	Micobionte
152	7A_15	Livingston	C408	Micobionte
153	7A_16	Livingston	C409	Micobionte
154	7B_01	Livingston	C112	Micobionte
155	7B_02	Livingston	C113	Micobionte
156	7B_03	Livingston	C114	Micobionte
157	8B_01	Livingston	C117	Micobionte
158	8B_02	Livingston	C118	Micobionte
159	8B_03	Livingston	C119	Micobionte
160	8B_04	Livingston	C120	Micobionte
161	8B_05	Livingston	C121	Micobionte
162	8B_06	Livingston	C122	Micobionte
163	8B_07	Livingston	C123	Micobionte
164	8B_08	Livingston	C124	Micobionte
165	9A_01	Livingston	C125	Micobionte
166	9A_02	Livingston	C126	Micobionte
167	9A_03	Livingston	C127	Micobionte
168	9A_04	Livingston	C128	Micobionte
169	9B_01	Livingston	C129	Micobionte
170	9B_02	Livingston	C130	Micobionte
171	9B_03	Livingston	C131	Micobionte
172	9B_04	Livingston	C132	Micobionte
173	aur.nav.1	Navarino	C313	Micobionte
174	aur.nav.3	Navarino	C315	Micobionte
175	aur.nav.6	Navarino	C318	Micobionte
176	per.nav.4	Navarino	C413	Micobionte
177	Q01_01	Navarino	C325	Micobionte
178	Q01_03	Navarino	C327	Micobionte
179	Q01_04	Navarino	C328	Micobionte
180	Q01_05	Navarino	C329	Micobionte
181	Q01_08	Navarino	C332	Micobionte
182	Q01_09	Navarino	C333	Micobionte
183	Q01_10	Navarino	C334	Micobionte
184	Q01_15	Navarino	C339	Micobionte
185	Q01_16	Navarino	C340	Micobionte

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte</b>
186	Q02_01	Navarino	C341	Micobionte
187	Q02_02	Navarino	C342	Micobionte
188	Q02_03	Navarino	C343	Micobionte
189	Q02_04	Navarino	C344	Micobionte
190	Q02_05	Navarino	C345	Micobionte
191	Q02_06	Navarino	C346	Micobionte
192	Q02_07	Navarino	C347	Micobionte
193	Q02_07'	Navarino	C348	Micobionte
194	Q02_08	Navarino	C349	Micobionte
195	Q02_10'	Navarino	C352	Micobionte
196	Q02_11	Navarino	C353	Micobionte
197	Q02_12	Navarino	C354	Micobionte
198	Q02_14	Navarino	C356	Micobionte
199	Q03_03	Navarino	C037	Micobionte
200	Q03_04	Navarino	C038	Micobionte
201	Q03_05	Navarino	C039	Micobionte
202	Q03_06	Navarino	C040	Micobionte
203	Q03_08	Navarino	C042	Micobionte
204	Q03_08'	Navarino	C043	Micobionte
205	Q03_09	Navarino	C044	Micobionte
206	Q03_10	Navarino	C045	Micobionte
207	Q03_11	Navarino	C046	Micobionte
208	Q03_12	Navarino	C047	Micobionte
209	Q03_13	Navarino	C048	Micobionte
210	Q03_14'	Navarino	C050	Micobionte
211	Q03_15	Navarino	C051	Micobionte
212	Q03_16	Navarino	C052	Micobionte
213	Q04_01	Navarino	C054	Micobionte
214	Q04_02	Navarino	C055	Micobionte
215	Q04_03	Navarino	C056	Micobionte
216	Q04_04	Navarino	C057	Micobionte
217	Q04_05	Navarino	C058	Micobionte
218	Q04_06	Navarino	C059	Micobionte
219	Q04_07	Navarino	C060	Micobionte
220	Q04_08	Navarino	C061	Micobionte
221	Q04_09	Navarino	C062	Micobionte
222	Q04_11	Navarino	C064	Micobionte
223	Q04_12	Navarino	C065	Micobionte
224	Q04_13	Navarino	C066	Micobionte
225	Q04_14	Navarino	C067	Micobionte
226	Q04_15	Navarino	C068	Micobionte
227	Q04_16	Navarino	C069	Micobionte
228	Q05_06	Navarino	C268	Micobionte
229	Q05_08	Navarino	C270	Micobionte

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte</b>
230	Q05_11'	Navarino	C273	Micobionte
231	Q05_13	Navarino	C275	Micobionte
232	Q05_14	Navarino	C276	Micobionte
233	Q05_15	Navarino	C277	Micobionte
234	Q05_17	Navarino	C279	Micobionte
235	Q06_01	Navarino	C229	Micobionte
236	Q06_02	Navarino	C230	Micobionte
237	Q06_03	Navarino	C231	Micobionte
238	Q06_04	Navarino	C232	Micobionte
239	Q06_05	Navarino	C233	Micobionte
240	Q06_06	Navarino	C234	Micobionte
241	Q06_07	Navarino	C235	Micobionte
242	Q06_09	Navarino	C237	Micobionte
243	Q06_10	Navarino	C238	Micobionte
244	Q06_11	Navarino	C239	Micobionte
245	Q06_15	Navarino	C243	Micobionte
246	Q06_16	Navarino	C244	Micobionte
247	Q07_03	Navarino	C249	Micobionte
248	Q07_06	Navarino	C252	Micobionte
249	Q07_07	Navarino	C253	Micobionte
250	Q07_08	Navarino	C254	Micobionte
251	Q07_10	Navarino	C256	Micobionte
252	Q07_11	Navarino	C257	Micobionte
253	Q07_14	Navarino	C260	Micobionte
254	Q07_15	Navarino	C261	Micobionte
255	Q08_04	Navarino	C283	Micobionte
256	Q08_05	Navarino	C284	Micobionte
257	Q08_06	Navarino	C285	Micobionte
258	Q08_11	Navarino	C289	Micobionte
259	Q08_14	Navarino	C292	Micobionte
260	Q08A_01	Livingston	C115	Micobionte
261	Q08A_02	Livingston	C116	Micobionte
262	Q09_01	Navarino	C018	Micobionte
263	Q09_02	Navarino	C019	Micobionte
264	Q09_05'	Navarino	C034	Micobionte
265	Q09_07	Navarino	C024	Micobionte
266	Q09_08	Navarino	C025	Micobionte
267	Q09_09	Navarino	C026	Micobionte
268	Q09_10	Navarino	C027	Micobionte
269	Q09_12	Navarino	C029	Micobionte
270	Q09_13	Navarino	C030	Micobionte
271	Q09_14	Navarino	C031	Micobionte
272	Q09_15	Navarino	C032	Micobionte
273	Q09_16	Navarino	C033	Micobionte

	ID Recolección	Localidad	ID Extracción	Bionte
274	Q10_01	Navarino	C293	Micobionte
275	Q10_03	Navarino	C295	Micobionte
276	Q10_04	Navarino	C296	Micobionte
277	Q10_10	Navarino	C300	Micobionte
278	Q10_10'	Navarino	C306	Micobionte
279	Q10_11	Navarino	C301	Micobionte
280	Q10_12	Navarino	C302	Micobionte
281	Q10_13	Navarino	C303	Micobionte
282	Q10_14	Navarino	C304	Micobionte
283	Q11_01	Navarino	C001	Micobionte
284	Q11_02	Navarino	C002	Micobionte
285	Q11_03	Navarino	C003	Micobionte
286	Q11_04	Navarino	C004	Micobionte
287	Q11_05	Navarino	C005	Micobionte
288	Q11_06	Navarino	C006	Micobionte
289	Q11_07	Navarino	C007	Micobionte
290	Q11_07'	Navarino	C017	Micobionte
291	Q11_08	Navarino	C008	Micobionte
292	Q11_09	Navarino	C009	Micobionte
293	Q11_10	Navarino	C010	Micobionte
294	Q11_13	Navarino	C013	Micobionte
295	Q11_14	Navarino	C014	Micobionte
296	Q11_15	Navarino	C015	Micobionte
297	Q11_16	Navarino	C016	Micobionte
298	Q12_04	Navarino	C357	Micobionte
299	Q12_04'	Navarino	C310	Micobionte
300	Q12_05	Navarino	C358	Micobionte
301	Q12_06	Navarino	C360	Micobionte
302	Q12_08	Navarino	C362	Micobionte
303	Q12_09	Navarino	C363	Micobionte
304	Q12_10	Navarino	C364	Micobionte
305	Q12_13	Navarino	C367	Micobionte
306	Q12_14	Navarino	C368	Micobionte
307	Q12_15	Navarino	C369	Micobionte
308	Q3_02_bis	Navarino	C372	Micobionte
309	tra.nav.1	Navarino	C416	Micobionte
310	tra.nav.2	Navarino	C417	Micobionte
311	tra.nav.3	Navarino	C418	Micobionte
312	tra.nav.4	Navarino	C419	Micobionte
313	tra.nav.5	Navarino	C420	Micobionte

**Tabla B3.** Inventario de los 255 especímenes según su identificación de recolección (ID recolección) a partir de los cuales se obtuvieron los haplotipos de fotobionte, y detalles de su localidad de origen y de su número identificativo de extracción (ID extracción). Los especímenes se encuentran almacenados en el departamento de Biología Vegetal II de la Universidad Complutense de Madrid.

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte secuenciado</b>
001	1A_01	Livingston	C070	Fotobionte
002	1A_02	Livingston	C071	Fotobionte
003	1A_03	Livingston	C072	Fotobionte
004	1A_04	Livingston	C073	Fotobionte
005	1A_05	Livingston	C074	Fotobionte
006	1A_06	Livingston	C075	Fotobionte
007	1A_07	Livingston	C076	Fotobionte
008	1A_08	Livingston	C077	Fotobionte
009	1A_09	Livingston	C078	Fotobionte
010	1A_12	Livingston	C081	Fotobionte
011	1A_13	Livingston	C082	Fotobionte
012	1A_14	Livingston	C083	Fotobionte
013	2A_01	Livingston	C084	Fotobionte
014	2A_02	Livingston	C085	Fotobionte
015	2A_03	Livingston	C086	Fotobionte
016	2A_04	Livingston	C087	Fotobionte
017	2A_05	Livingston	C088	Fotobionte
018	2A_06	Livingston	C089	Fotobionte
019	2A_07	Livingston	C090	Fotobionte
020	2A_08	Livingston	C091	Fotobionte
021	2A_09	Livingston	C092	Fotobionte
022	2A_10	Livingston	C093	Fotobionte
023	2A_11	Livingston	C094	Fotobionte
024	2B_10	Livingston	C390	Fotobionte
025	2B_13	Livingston	C393	Fotobionte
026	3A_01	Livingston	C096	Fotobionte
027	3A_02	Livingston	C097	Fotobionte
028	3A_03	Livingston	C098	Fotobionte
029	3A_04	Livingston	C099	Fotobionte
030	3A_05	Livingston	C100	Fotobionte
031	3A_06	Livingston	C101	Fotobionte
032	3A_07	Livingston	C102	Fotobionte
033	3A_09	Livingston	C104	Fotobionte
034	3A_10	Livingston	C105	Fotobionte
035	3A_11	Livingston	C106	Fotobionte
036	3A_12	Livingston	C107	Fotobionte
037	3A_13	Livingston	C108	Fotobionte
038	3A_14	Livingston	C109	Fotobionte
039	3A_15	Livingston	C110	Fotobionte

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte secuenciado</b>
040	3A_16	Livingston	C111	Fotobionte
041	3B_01	Livingston	C133	Fotobionte
042	3B_04	Livingston	C136	Fotobionte
043	3B_11	Livingston	C143	Fotobionte
044	3B_13	Livingston	C145	Fotobionte
045	3B_16	Livingston	C148	Fotobionte
046	4A_04	Livingston	C152	Fotobionte
047	4A_10	Livingston	C158	Fotobionte
048	4B_02	Livingston	C160	Fotobionte
049	4B_07	Livingston	C165	Fotobionte
050	4B_08	Livingston	C166	Fotobionte
051	4B_11	Livingston	C169	Fotobionte
052	4B_12	Livingston	C170	Fotobionte
053	4B_16	Livingston	C174	Fotobionte
054	5A_01	Livingston	C191	Fotobionte
055	5A_03	Livingston	C193	Fotobionte
056	5A_04	Livingston	C194	Fotobionte
057	5A_05	Livingston	C195	Fotobionte
058	5A_06	Livingston	C196	Fotobionte
059	5A_07	Livingston	C197	Fotobionte
060	5A_08	Livingston	C198	Fotobionte
061	5A_09	Livingston	C199	Fotobionte
062	5A_10	Livingston	C200	Fotobionte
063	5A_12	Livingston	C202	Fotobionte
064	5A_13	Livingston	C203	Fotobionte
065	5A_16	Livingston	C206	Fotobionte
066	5A_17	Livingston	C207	Fotobionte
067	5B_01	Livingston	C175	Fotobionte
068	5B_04	Livingston	C178	Fotobionte
069	5B_05	Livingston	C179	Fotobionte
070	5B_06	Livingston	C180	Fotobionte
071	5B_08	Livingston	C182	Fotobionte
072	5B_09	Livingston	C183	Fotobionte
073	5B_10	Livingston	C184	Fotobionte
074	5B_11	Livingston	C185	Fotobionte
075	5B_12	Livingston	C186	Fotobionte
076	5B_13	Livingston	C187	Fotobionte
077	5B_14	Livingston	C188	Fotobionte
078	5B_15	Livingston	C189	Fotobionte
079	5B_16	Livingston	C190	Fotobionte
080	6A_01	Livingston	C208	Fotobionte
081	6A_02	Livingston	C209	Fotobionte
082	6A_03	Livingston	C210	Fotobionte
083	6A_04	Livingston	C211	Fotobionte

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte secuenciado</b>
084	6A_06	Livingston	C213	Fotobionte
085	6A_08	Livingston	C215	Fotobionte
086	6A_09	Livingston	C216	Fotobionte
087	6A_10	Livingston	C217	Fotobionte
088	6B_02	Livingston	C219	Fotobionte
089	6B_03	Livingston	C220	Fotobionte
090	6B_04	Livingston	C221	Fotobionte
091	6B_05	Livingston	C222	Fotobionte
092	6B_07	Livingston	C224	Fotobionte
093	7A_01	Livingston	C228	Fotobionte
094	7A_13	Livingston	C406	Fotobionte
095	7A_14	Livingston	C407	Fotobionte
096	7B_01	Livingston	C112	Fotobionte
097	7B_02	Livingston	C113	Fotobionte
098	8A_01	Livingston	C115	Fotobionte
099	8A_02	Livingston	C116	Fotobionte
100	8B_01	Livingston	C117	Fotobionte
101	8B_02	Livingston	C118	Fotobionte
102	8B_04	Livingston	C120	Fotobionte
103	8B_05	Livingston	C121	Fotobionte
104	8B_06	Livingston	C122	Fotobionte
105	8B_07	Livingston	C123	Fotobionte
106	8B_08	Livingston	C124	Fotobionte
107	9A_01	Livingston	C125	Fotobionte
108	9A_02	Livingston	C126	Fotobionte
109	9A_03	Livingston	C127	Fotobionte
110	9A_04	Livingston	C128	Fotobionte
111	9B_01	Livingston	C129	Fotobionte
112	9B_02	Livingston	C130	Fotobionte
113	9B_03	Livingston	C131	Fotobionte
114	ant.nav.1	Navarino	C319	Fotobionte
115	aur.nav.5	Navarino	C317	Fotobionte
116	per.nav.1	Navarino	C410	Fotobionte
117	per.nav.2	Navarino	C411	Fotobionte
118	per.nav.3	Navarino	C412	Fotobionte
119	per.nav.4	Navarino	C413	Fotobionte
120	per.nav.5	Navarino	C414	Fotobionte
121	per.nav.6	Navarino	C415	Fotobionte
122	Q01_01	Navarino	C325	Fotobionte
123	Q01_02	Navarino	C326	Fotobionte
124	Q01_03	Navarino	C327	Fotobionte
125	Q01_04	Navarino	C328	Fotobionte
126	Q01_05	Navarino	C329	Fotobionte
127	Q01_06	Navarino	C330	Fotobionte

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte secuenciado</b>
128	Q01_07	Navarino	C331	Fotobionte
129	Q01_08	Navarino	C332	Fotobionte
130	Q01_09	Navarino	C333	Fotobionte
131	Q01_10	Navarino	C334	Fotobionte
132	Q01_11	Navarino	C335	Fotobionte
133	Q01_12	Navarino	C336	Fotobionte
134	Q01_13	Navarino	C337	Fotobionte
135	Q01_14	Navarino	C338	Fotobionte
136	Q01_15	Navarino	C339	Fotobionte
137	Q02_02	Navarino	C342	Fotobionte
138	Q02_03	Navarino	C343	Fotobionte
139	Q02_05	Navarino	C345	Fotobionte
140	Q02_06	Navarino	C346	Fotobionte
141	Q02_07	Navarino	C347	Fotobionte
142	Q02_07'	Navarino	C348	Fotobionte
143	Q02_08	Navarino	C349	Fotobionte
144	Q02_09	Navarino	C350	Fotobionte
145	Q02_10	Navarino	C351	Fotobionte
146	Q02_10'	Navarino	C352	Fotobionte
147	Q02_11	Navarino	C353	Fotobionte
148	Q02_12	Navarino	C354	Fotobionte
149	Q02_13	Navarino	C355	Fotobionte
150	Q02_14	Navarino	C356	Fotobionte
151	Q03_03	Navarino	C037	Fotobionte
152	Q03_04	Navarino	C038	Fotobionte
153	Q03_05	Navarino	C039	Fotobionte
154	Q03_06	Navarino	C040	Fotobionte
155	Q03_07	Navarino	C041	Fotobionte
156	Q03_08	Navarino	C042	Fotobionte
157	Q03_08'	Navarino	C043	Fotobionte
158	Q03_09	Navarino	C044	Fotobionte
159	Q03_10	Navarino	C045	Fotobionte
160	Q03_11	Navarino	C046	Fotobionte
161	Q03_12	Navarino	C047	Fotobionte
162	Q03_13	Navarino	C048	Fotobionte
163	Q03_14	Navarino	C049	Fotobionte
164	Q03_14'	Navarino	C050	Fotobionte
165	Q03_15	Navarino	C051	Fotobionte
166	Q03_16	Navarino	C052	Fotobionte
167	Q03_17	Navarino	C053	Fotobionte
168	Q04_01	Navarino	C054	Fotobionte
169	Q04_02	Navarino	C055	Fotobionte
170	Q04_03	Navarino	C056	Fotobionte
171	Q04_04	Navarino	C057	Fotobionte



	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte secuenciado</b>
172	Q04_05	Navarino	C058	Fotobionte
173	Q04_06	Navarino	C059	Fotobionte
174	Q04_07	Navarino	C060	Fotobionte
175	Q04_08	Navarino	C061	Fotobionte
176	Q04_09	Navarino	C062	Fotobionte
177	Q04_10	Navarino	C063	Fotobionte
178	Q04_11	Navarino	C064	Fotobionte
179	Q04_12	Navarino	C065	Fotobionte
180	Q04_13	Navarino	C066	Fotobionte
181	Q04_14	Navarino	C067	Fotobionte
182	Q04_15	Navarino	C068	Fotobionte
183	Q04_16	Navarino	C069	Fotobionte
184	Q05_10	Navarino	C272	Fotobionte
185	Q05_11'	Navarino	C273	Fotobionte
186	Q05_14	Navarino	C276	Fotobionte
187	Q06_01	Navarino	C229	Fotobionte
188	Q06_02	Navarino	C230	Fotobionte
189	Q06_04	Navarino	C232	Fotobionte
190	Q06_05	Navarino	C233	Fotobionte
191	Q06_07	Navarino	C235	Fotobionte
192	Q06_12	Navarino	C240	Fotobionte
193	Q06_13	Navarino	C241	Fotobionte
194	Q06_14	Navarino	C242	Fotobionte
195	Q07_07	Navarino	C253	Fotobionte
196	Q07_08	Navarino	C254	Fotobionte
197	Q07_09	Navarino	C255	Fotobionte
198	Q07_11	Navarino	C257	Fotobionte
199	Q07_12	Navarino	C258	Fotobionte
200	Q07_13	Navarino	C259	Fotobionte
201	Q09_01	Navarino	C018	Fotobionte
202	Q09_02	Navarino	C019	Fotobionte
203	Q09_03	Navarino	C020	Fotobionte
204	Q09_04	Navarino	C021	Fotobionte
205	Q09_05	Navarino	C022	Fotobionte
206	Q09_05'	Navarino	C034	Fotobionte
207	Q09_06	Navarino	C023	Fotobionte
208	Q09_07	Navarino	C024	Fotobionte
209	Q09_08	Navarino	C025	Fotobionte
210	Q09_09	Navarino	C026	Fotobionte
211	Q09_10	Navarino	C027	Fotobionte
212	Q09_11	Navarino	C028	Fotobionte
213	Q09_12	Navarino	C029	Fotobionte
214	Q09_13	Navarino	C030	Fotobionte
215	Q09_14	Navarino	C031	Fotobionte

	<b>ID Recolección</b>	<b>Localidad</b>	<b>ID Extracción</b>	<b>Bionte secuenciado</b>
216	Q09_15	Navarino	C032	Fotobionte
217	Q09_16	Navarino	C033	Fotobionte
218	Q11_01	Navarino	C001	Fotobionte
219	Q11_02	Navarino	C002	Fotobionte
220	Q11_03	Navarino	C003	Fotobionte
221	Q11_04	Navarino	C004	Fotobionte
222	Q11_05	Navarino	C005	Fotobionte
223	Q11_06	Navarino	C006	Fotobionte
224	Q11_07	Navarino	C007	Fotobionte
225	Q11_07'	Navarino	C017	Fotobionte
226	Q11_08	Navarino	C008	Fotobionte
227	Q11_09	Navarino	C009	Fotobionte
228	Q11_10	Navarino	C010	Fotobionte
229	Q11_11	Navarino	C011	Fotobionte
230	Q11_12	Navarino	C012	Fotobionte
231	Q11_13	Navarino	C013	Fotobionte
232	Q11_14	Navarino	C014	Fotobionte
233	Q11_15	Navarino	C015	Fotobionte
234	Q11_16	Navarino	C016	Fotobionte
235	Q12_04	Navarino	C357	Fotobionte
236	Q12_05	Navarino	C358	Fotobionte
237	Q12_05'	Navarino	C359	Fotobionte
238	Q12_06	Navarino	C360	Fotobionte
239	Q12_07	Navarino	C361	Fotobionte
240	Q12_08	Navarino	C362	Fotobionte
241	Q12_09	Navarino	C363	Fotobionte
242	Q12_10	Navarino	C364	Fotobionte
243	Q12_11	Navarino	C365	Fotobionte
244	Q12_12	Navarino	C366	Fotobionte
245	Q12_13	Navarino	C367	Fotobionte
246	Q12_14	Navarino	C368	Fotobionte
247	Q12_15	Navarino	C369	Fotobionte
248	Q12_16	Navarino	C370	Fotobionte
249	Q3_01_bis	Navarino	C371	Fotobionte
250	Q3_02_bis	Navarino	C372	Fotobionte
251	tra.nav.1	Navarino	C416	Fotobionte
252	tra.nav.2	Navarino	C417	Fotobionte
253	tra.nav.3	Navarino	C418	Fotobionte
254	tra.nav.4	Navarino	C419	Fotobionte
255	tra.nav.5	Navarino	C420	Fotobionte



## **ANEXO C.**

**Figuras y Tablas suplementarias del estudio  
ecofisiológico de *Usnea* en Isla Navarino.**



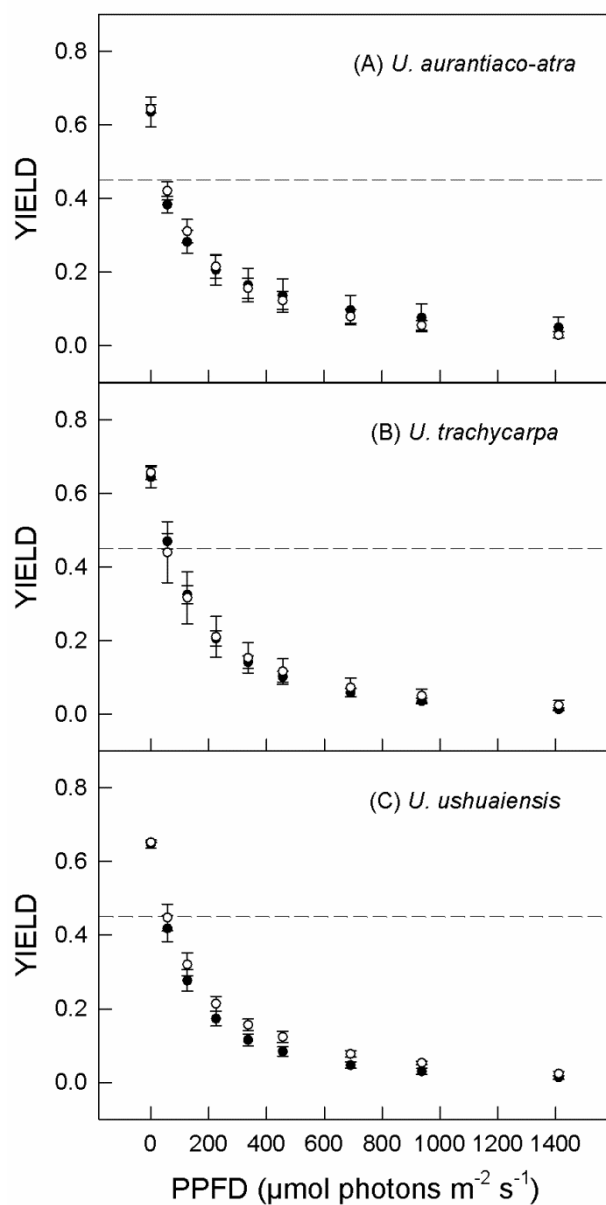
En el presente apartado se presentan las figuras y tablas suplementarias del estudio ecofisiológico de *Usnea* en Isla Navarino.

**Tabla C 1.** Caracterización de los 15 puntos de muestreo en base a sus datos de posición (latitud, longitud, altitud y orientación), su pendiente (°), y a su pertenencia a las distintas categorías de mesotopografía (planicies, laderas y crestas), y de tipo de detrito o roca (piedras < 10 cm, piedras de 10 – 50 cm, y bloques > 50 cm); y valores medios de cobertura para el grupo objeto de estudio del presente trabajo.

Id. del punto de muestreo									
	Latitud	Longitud	Altitud (m)	Orientación	Pendiente (°)	Meso topografía	Tamaño de roca	Suelo desnudo (%)	Cobertura de <i>Usnea</i> (%)
Q01	S54 58.390	W67 37.993	769	W	45	Ladera	10 - 50 cm	76	22
Q02	S54 58.522	W67 38.969	734	N	45	Ladera	> 50 cm	60	28
Q03	S54 58.699	W67 39.000	842	N	45	Crestas	10 - 50 cm	63	35
Q04	S54 58.627	W67 38.576	769	N	90	Crestas	> 50 cm	33	53
Q05	S54 58.531	W67 37.869	812	SW	0	Crestas	10 - 50 cm	61	31
Q06	S54 57.853	W67 37.890	619	W	15	Planicies	< 10 cm	39	23
Q07	S54 58.278	W67 37.965	734	NW	15	Crestas	10 - 50 cm	55	38
Q08	S54 58.294	W67 37.956	737	NW	15	Crestas	< 10 cm	64	22
Q09	S54 58.310	W67 38.295	719	NW	15	Ladera	> 50 cm	52	46
Q10	S54 58.510	W67 38.010	767	SW	45	Ladera	10 - 50 cm	76	21
Q11	S54 58.009	W67 37.964	632	SW	15	Planicies	< 10 cm	52	22
Q12	S54 57.995	W67 38.362	651	W	15	Planicies	< 10 cm	62	20
Q13	S54 58.269	W67 37.994	728	NW	80	Crestas	> 50 cm	33	56
Q14	S54 58.496	W67 37.929	792	NW	75	Crestas	> 50 cm	49	41
Q15	S54 58.492	W67 37.953	791	NW	45	Ladera	> 50 cm	41	50

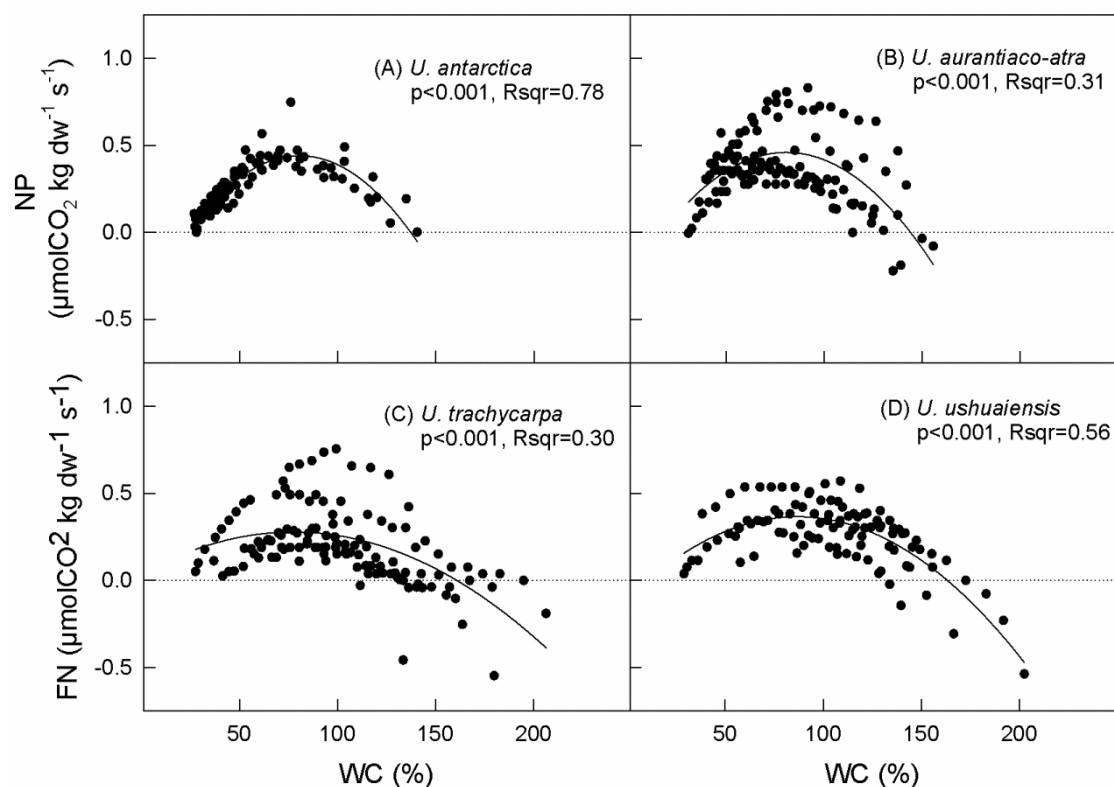
**Tabla C 2.** Descripción de los 10 puntos donde se instalaron los 10 sensores que registraron los datos de microclima. Además de los datos de posición (latitud, longitud, altitud y orientación), el tamaño de roca (piedras < 50 cm y bloques > 50 cm) y la pendiente, para cada sensor se indica su correspondiente categoría de mesotopografía (aquí simplificadas a Planicies/Laderas o Crestas); de tamaño de roca (detrito pequeño o bloque); de pendiente (H = horizontal / V = vertical) utilizadas en los análisis estadísticos)

Id. del sensor	Latitud	Longitud	Altitud (m)	Orientación	Meso topografía	Tamaño de roca (categorías)	Pendiente (°)	Pendiente (categorías)
iB #1	S54 57.842	W67 37.906	612	SW	Planicies y Laderas	piedra 50 cm	< 10	H
iB #2	S54 58.309	W67 38.301	718	NW	Planicies y Laderas	piedra 50 cm	< 10	H
iB #3	S54 58.268	W67 37.992	723	NW	Crestas	Bloque 50 cm	> 90	V
iB #4	S54 58.273	W67 37.973	729	NW	Crestas	piedra 50 cm	< 10	H
iB #5	S54 58.393	W67 37.989	773	NW	Planicies y Laderas	piedra 50 cm	< 20	H
iB #6	S54 58.410	W67 37.922	785	W	Crestas	Bloque 50 cm	> 90	V
iB #7	S54 58.490	W67 37.945	791	NW	Planicies y Laderas	Bloque 50 cm	> 50	V
iB #8	S54 58.526	W67 37.873	800	NW	Crestas	piedra 50 cm	< 0	H
iB #9	S54 58.633	W67 38.559	779	NW	Crestas	Bloque 50 cm	> 90	V
iB #10	S54 58.538	W67 38.982	743	N	Planicies y Laderas	Bloque 50 cm	> 90	V



**Figura C 1.** Evolución de los valores de rendimiento cuántico fotosintético (Yield) medido mediante técnicas de fluorescencia frente a un aumento progresivo de luz, medidos antes (círculos rellenos) y después (círculos huecos) de los experimentos de intercambio gaseoso para tres de las especies estudiadas: (A) *U. aurantiaco-atra*, (B) *U. trachycarpa* y (C) *U. ushuaiensis* (N = 4). La línea discontinua indica el valor mínimo de Yield esperable para muestras de liquen en buen estado, con hidratación óptima y después de un periodo de 20 minutos en oscuridad.





**Figura C 2.** Respuesta de la Fotosíntesis Neta ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) frente al contenido hídrico para cada una de las especies de *Usnea* estudiadas, (A) *U. antártica*, (B) *U. aurantiaco-atra*, (C) *U. trachycarpa* y (D) *U. ushuaiensis*. Los círculos negros representan los valores reales medidos bajo condiciones controladas ( $N = 6$  para UANT,  $N = 8$  para el resto). Las líneas continuas representan la función que mejor se ajustaba a los valores representados (función cuadrática). La línea discontinua horizontal representa el punto de compensación de la fotosíntesis (donde  $\text{FN} = 0$ ).

**Tabla C 3.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre los valores de “puntos de compensación de luz” (PPFDcomp,  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *Usnea antarctica* (N = 6), *U. aurantiaco-atra* (N = 8), *U. trachycarpa* (N = 8), y *U. ushuaensis* (N = 8) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C).

Resultados de los análisis de PPFDcomp	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.124	p < 0.050	p < 0.050	p < 0.050	p = 0.239
Test Homocedasticidad	p = 0.063	-	-	-	p = 0.177
Análisis de la Varianza	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.145	KW ANOVA on Ranks; H = 7.217; gl = 3; p = 0.065	KW ANOVA on Ranks; H = 7.728; gl = 3; p = 0.052	KW ANOVA on Ranks; H = 0.733; gl = 3; p = 0.865	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.393
Valores de PPFDcomp ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Mediana $\pm$ IQR	Mediana $\pm$ IQR	Mediana $\pm$ IQR	Media $\pm$ SdErr
<i>Usnea antarctica</i>	60 $\pm$ 12	105 $\pm$ 22	136 $\pm$ 36	268 $\pm$ 135	555 $\pm$ 106
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	149 $\pm$ 26	128 $\pm$ 105	153 $\pm$ 35	258 $\pm$ 80	1034 $\pm$ 197
<i>Usnea trachycarpa</i>	119 $\pm$ 25	180 $\pm$ 100	166 $\pm$ 69	317 $\pm$ 332	922 $\pm$ 449
<i>Usnea ushuaensis</i>	163 $\pm$ 44	174 $\pm$ 213	222 $\pm$ 83	331 $\pm$ 383	793 $\pm$ 207

**Tabla C 4.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre los valores de “puntos de saturación de luz” (PPFDsat,  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *Usnea antarctica* (N = 6), *U. aurantiaco-atra* (N = 8), *U. trachycarpa* (N = 8), y *U. ushuaensis* (N = 8) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C). El asterisco (\*) señala los p-valores significativos; los grupos significativamente distintos entre sí se señalaron con distintas letras (a, b).

Resultados de los análisis de PPFDsat	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.822	p = 0.828	p = 0.626	p = 0.985	p < 0.050
Test Homocedasticidad	p = 0.309	p = 0.417	p = 0.885	p = 0.118	-
Análisis de la Varianza	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.183	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.048(*)	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.225	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.796	KW ANOVA on Ranks; H = 6.330; gl = 3; p = 0.097
Valores de PPFDsat ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Mediana $\pm$ IQR
<i>Usnea antarctica</i>	336 $\pm$ 41	566 $\pm$ 40 <sup>a</sup>	670 $\pm$ 73	853 $\pm$ 48	1031 $\pm$ 109
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	521 $\pm$ 57	644 $\pm$ 57	711 $\pm$ 42	835 $\pm$ 40	1220 $\pm$ 428
<i>Usnea trachycarpa</i>	506 $\pm$ 87	712 $\pm$ 61	723 $\pm$ 45	847 $\pm$ 73	1295 $\pm$ 337
<i>Usnea ushuaensis</i>	588 $\pm$ 97	794 $\pm$ 50 <sup>b</sup>	823 $\pm$ 52	914 $\pm$ 72	1206 $\pm$ 504

**Tabla C 5.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre las tasas de “fotosíntesis neta máxima” ( $A_{max}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *Usnea antarctica* (N = 6), *U. aurantiaco-atra* (N = 8), *U. trachycarpa* (N = 8), y *U. ushuaiensis* (N = 8) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C). El asterisco (\*) señala los p-valores significativos.

Resultados de los análisis de $A_{max}$	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.850	p = 0.247	p < 0.050	p < 0.050	p < 0.050
Test Homocedasticidad	p = 0.325	p = 0.258	-	-	-
Análisis de la Varianza	ANOVA. $\alpha = 0.05$ ; p = 0.483	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.123	KW ANOVA on Ranks; H = 6.894; gl = 3; p = 0.075	KW ANOVA on Ranks; H = 4.713; gl = 3; p = 0.194	KW ANOVA on Ranks; H = 8.161; gl = 3; p = 0.043 (*)
Valores de $A_{max}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Mediana $\pm$ IQR	Mediana $\pm$ IQR	Mediana $\pm$ IQR
<i>Usnea antarctica</i>	0.10 $\pm$ 0.01	0.33 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.12	0.36 $\pm$ 0.10	0.19 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	0.07 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.05	0.44 $\pm$ 0.33	0.32 $\pm$ 0.40	-0.02 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
<i>Usnea trachycarpa</i>	0.08 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.15	0.26 $\pm$ 0.15	-0.03 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>
<i>Usnea ushuaiensis</i>	0.08 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.05	0.36 $\pm$ 0.15	0.25 $\pm$ 0.33	-0.01 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>

**Tabla C 6.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre las tasas de “respiración en el óptimo contenido hídrico” ( $DR_{opt}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *Usnea antarctica* (N = 6), *U. aurantiaco-atra* (N = 8), *U. trachycarpa* (N = 8), y *U. ushuaiensis* (N = 8) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C). El asterisco (\*) señala los p-valores significativos.

Resultados de los análisis de $DR_{opt}$	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.816	p = 0.425	p = 0.639	p = 0.255	p = 0.429
Test Homocedasticidad	p = 0.334	p = 0.091	p = 0.053	p = 0.723	p = 0.421
Análisis de la Varianza	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.044 (*)	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.515	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.906	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.591	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.108
Valores de $DR_{opt}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr
<i>Usnea antarctica</i>	-0.08 $\pm$ 0.02	-0.23 $\pm$ 0.02	-0.40 $\pm$ 0.05	-0.61 $\pm$ 0.07	-0.88 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	-0.15 $\pm$ 0.01	-0.27 $\pm$ 0.03	-0.41 $\pm$ 0.04	-0.71 $\pm$ 0.08	-1.23 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
<i>Usnea trachycarpa</i>	-0.11 $\pm$ 0.02	-0.27 $\pm$ 0.03	-0.37 $\pm$ 0.05	-0.63 $\pm$ 0.07	-1.08 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
<i>Usnea ushuaiensis</i>	-0.09 $\pm$ 0.01	-0.24 $\pm$ 0.02	-0.38 $\pm$ 0.02	-0.59 $\pm$ 0.04	-0.97 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>

**Tabla C 7.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre las tasas de “respiración en el máximo contenido hídrico” (DRmax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *U. aurantiaco-atra* (N = 3), *U. trachycarpa* (N = 3), y *U. ushuaiensis* (N = 2) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C).

Resultados de los análisis de DRmax	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.844	p = 0.142	p = 0.112	p = 0.339	p = 0.184
Test Homocedasticidad	p = 0.357	p = 0.705	p = 0.553	p = 0.618	p = 0.184
Análisis de la Varianza	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.172	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.403	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.793	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.93	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.987
Valores de DRmax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	-0.39 $\pm$ 0.06	-0.69 $\pm$ 0.14	-1.10 $\pm$ 0.23	-1.35 $\pm$ 0.30	-1.80 $\pm$ 0.25
<i>Usnea trachycarpa</i>	-0.19 $\pm$ 0.08	-0.42 $\pm$ 0.12	-0.92 $\pm$ 0.21	-1.20 $\pm$ 0.30	-1.74 $\pm$ 0.40
<i>Usnea ushuaiensis</i>	-0.29 $\pm$ 0.02	-0.54 $\pm$ 0.12	-0.92 $\pm$ 0.08	-1.32 $\pm$ 0.21	-1.80 $\pm$ 0.27

**Tabla C 8.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre las tasas de “fotosíntesis bruta en el óptimo contenido hídrico” (GPopt,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *Usnea antarctica* (N = 6), *U. aurantiaco-atra* (N = 8), *U. trachycarpa* (N = 8), y *U. ushuaiensis* (N = 8) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C).

Resultados de los análisis de GPopt	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.473	p = 0.761	p = 0.457	p = 0.914	p < 0.050
Test Homocedasticidad	p = 0.450	p = 0.767	p = 0.257	p = 0.157	-
Análisis de la Varianza	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.625	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.152	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.107	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.225	KW ANOVA on Ranks; H = 3.276; gl = 3; p = 0.351
Valores de GPopt ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Mediana $\pm$ IQR
<i>Usnea antarctica</i>	0.19 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.06	0.92 $\pm$ 0.06	1.00 $\pm$ 0.09	1.10 $\pm$ 0.25
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	0.22 $\pm$ 0.02	0.62 $\pm$ 0.05	0.92 $\pm$ 0.09	1.15 $\pm$ 0.14	1.12 $\pm$ 0.65
<i>Usnea trachycarpa</i>	0.18 $\pm$ 0.03	0.48 $\pm$ 0.05	0.78 $\pm$ 0.06	0.91 $\pm$ 0.09	0.98 $\pm$ 0.44
<i>Usnea ushuaiensis</i>	0.18 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.03	0.72 $\pm$ 0.04	0.87 $\pm$ 0.08	0.96 $\pm$ 0.52

**Tabla C 9.** Resultados de los Test de Normalidad, Homocedasticidad y Análisis de la Varianza aplicados sobre las tasas de “fotosíntesis bruta máxima” (GPmax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) obtenidos para las distintas especies a cada una de las cinco temperaturas estudiadas; y valores correspondientes de Media  $\pm$  SdErr (en los casos de distribución normal) o de Mediana  $\pm$  IQR (en los casos de distribución no-normal) de las especies *U. aurantiaco-atra* (N = 3), *U. trachycarpa* (N = 3), y *U. ushuaiensis* (N = 2) a cada una de las temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C).

Resultados de los análisis de GPmax	-4 °C	+3 °C	10 °C	17 °C	24 °C
Test Normalidad	p = 0.784	p = 0.064	p < 0.050	p = 0.510	p = 0.170
Test Homocedasticidad	p = 0.477	p = 0.821	-	p = 0.260	p = 0.734
Análisis de la Varianza	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.13	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.268	KW ANOVA on Ranks; H = 2.000; gl = 2; p = 0.425	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.81	ANOVA; $\alpha = 0.05$ ; p = 0.982
Valores de GPmax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr	Mediana $\pm$ IQR	Media $\pm$ SdErr	Media $\pm$ SdErr
<i>Usnea aurantiaco-atra</i>	0.42 $\pm$ 0.07	1.02 $\pm$ 0.19	1.74 $\pm$ 0.59	1.64 $\pm$ 0.33	1.73 $\pm$ 0.24
<i>Usnea trachycarpa</i>	0.23 $\pm$ 0.05	0.61 $\pm$ 0.14	1.46 $\pm$ 0.65	1.45 $\pm$ 0.29	1.67 $\pm$ 0.39
<i>Usnea ushuaiensis</i>	0.35 $\pm$ 0.01	0.71 $\pm$ 0.17	1.16 $\pm$ 0.39	1.35 $\pm$ 0.25	1.64 $\pm$ 0.33

## **ANEXO D.**

**Tablas suplementarias sobre los experimentos de intercambio gaseoso bajo condiciones controladas de laboratorio.**



En el presente apartado se presentan las tablas suplementarias sobre los experimentos de intercambio gaseoso bajo condiciones controladas de laboratorio. En los Capítulos 2 y 3 se detallan los procedimientos para la obtención mediante medidas de intercambio gaseoso de los datos aquí analizados. Se comparó la respuesta fisiológica entre especímenes procedentes de las distintas localidades estudiadas (Livingston y Navarino) para las especies *U. aurantiaco-atra* (**Tablas D1 – D6**) y *U. antarctica* (**Tablas D7 - D11**).

Los valores de contenido hídrico óptimo (WC<sub>opt</sub>, **Tablas D1 y D7**) se obtuvieron a partir de la curva de deshidratación realizada a 10 °C y bajo un PPFD de 800  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Los valores de contenido hídrico máximo (WC<sub>max</sub>, **Tablas D1 y D7**) se obtuvieron después de hidratar los líquenes al máximo mediante inmersión. Los valores de temperatura óptima y fotosíntesis neta máxima (T<sub>opt</sub>, NP<sub>max</sub>, **Tablas D1 y D7**) se obtuvieron a partir de las curvas de temperatura bajo un PPFD de 1200  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Los valores de puntos de compensación de luz (PPFD<sub>comp</sub>,  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , **Tablas D2 y D8**); los valores de puntos de saturación de luz (PPFD<sub>sat</sub>,  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , **Tablas D3 y D9**); los valores de fotosíntesis neta máxima (A<sub>max</sub>,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ , **Tablas D4 y D10**); y los valores de respiración en el óptimo de hidratación (DR<sub>opt</sub>,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ , **Tablas D5 y D11**) se obtuvieron a partir de los ajustes de Smith a las distintas temperaturas estudiadas entre los -4 y los 24 °C. Los valores de respiración máxima (DR<sub>max</sub>,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ , **Tabla D6**) se obtuvieron en el máximo contenido hídrico.

Las comparaciones entre localidades se realizaron mediante Student's t-test cuando la distribución de los datos era normal y las varianzas similares; o mediante el test de Mann-Whitney (MW Rank sum test) cuando algunas de estas premisas fallaron. Las medidas de centralización (M. Centr.) utilizadas fueron la Media  $\pm$  Error Típico (SdErr) o la Mediana  $\pm$  Rango Interquantílico (IQR) en función de los mismos criterios. Para comprobar la distribución de los datos se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov (T. Norm.) y para comprobar la similitud de las varianzas un test de Homocedasticidad (T. Homoc.).

En el caso de *U. aurantiaco-atra*, el tamaño de muestra era N = 8 para Isla Livingston e Isla Navarino, excepto en los casos de WC max (N = 4) y de DR max (con N = 4 para Isla Livingston y N = 3 para Isla Navarino). En el caso de *U. antarctica* el tamaño de muestra era N = 8 para Isla Livingston y N = 6 para Isla Navarino, excepto en los casos de WC max (con N = 4 y N = 6 para Isla Livingston e Isla Navarino respectivamente) y de DR max (con N = 4 para Isla Livingston y ningún dato para Isla Navarino, por lo que éste parámetro no se pudo comparar en esta especie).



Tabla D1. Valores promedio de contenido hídrico óptimo (WCopt, %), contenido hídrico máximo (WC max, %), óptimo de temperatura (Topt, °C) y fotosíntesis neta máxima en el óptimo de temperatura (NPmax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) observados en ejemplares de la especie *U. aurantiaco-atra* procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. aurantiaco-atra*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

	Localidad		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr.	T. Norm.	T. Homoc.	Comparación entre grupos
WCopt (%)	74.3 $\pm$ 2.0	76.2 $\pm$ 3.3	Media $\pm$ SdErr	p = 0.890 (passed)	p = 0.202 (passed)	Student's t-test; t = 0.507; gl = 14; p = 0.620
WCmax (%)	167.8 $\pm$ 3.9	171.4 $\pm$ 10.5	Mediana $\pm$ IQR	p = 0.780 (passed)	p < 0.050 (failed)	MW Rank Sum Test; U = 6; T = 16; p = 0.686
Topt (°C)	12.7 $\pm$ 0.5	12.2 $\pm$ 1.2	Media $\pm$ SdErr	p = 0.067 (passed)	p = 0.235 (passed)	Student's t-test; t = 0.394; gl = 14; p = 0.699
NPmax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	0.56 $\pm$ 0.1	0.49 $\pm$ 0.4	Mediana $\pm$ IQR	p = 0.211 (passed)	p < 0.050 (failed)	MW Rank Sum Test; U = 29; T = 65; p = 0.798

Tabla D2. Valores promedio de los puntos de compensación de luz (PPFDcomp,  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. aurantiaco-atra*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	PPFDcomp ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr.	T. Norm.	T. Homoc.	Comparación entre grupos
-4 °C	74 $\pm$ 59	131 $\pm$ 66	Mediana $\pm$ IQR	P < 0,050 (failed)	-	MW Rank Sum Test; U = 13; T = 41; p = 0.094
3 °C	122 $\pm$ 9	141 $\pm$ 9	Media $\pm$ SdErr	P = 0,787 (passed)	P = 0,084 (passed)	Student's t-test; t = ; gl = 14; p = 0.460
10 °C	174 $\pm$ 16	160 $\pm$ 19	Media $\pm$ SdErr	P = 0,227 (passed)	P = 0,849 (passed)	Student's t-test; t = ; gl = 14; p = 0.562
17 °C	307 $\pm$ 26	274 $\pm$ 37	Media $\pm$ SdErr	P = 0,301 (passed)	P = 0,709 (passed)	Student's t-test; t = ; gl = 14; p = 0.480
24 °C	861 $\pm$ 136	1034 $\pm$ 197	Media $\pm$ SdErr	P = 0,744 (passed)	P = 0,400 (passed)	Student's t-test; t = ; gl = 14; p = 0.469

Tabla D3. Valores promedio de los puntos de saturación de luz (PPFDsat,  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. aurantiaco-atra*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	PPFDsat ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr.	T. Norm.	T. Homoc.	Comparación entre grupos
-4 °C	382 ± 464	498 ± 208	Mediana ± IQR	P < 0,050 (failed)	-	MW Rank Sum Test; U = 24; T = 60; p = 0.442
3 °C	572 ± 32	644 ± 57	Media ± SdErr	P = 0,882 (passed)	P = 0,084 (passed)	Student's t-test; t = -1.108; gl = 14; p = 0.287
10 °C	723 ± 41	711 ± 42	Media ± SdErr	P = 0,368 (passed)	P = 0,591 (passed)	Student's t-test; t = 0.204; gl = 14; p = 0.841
17 °C	880 ± 37	835 ± 40	Media ± SdErr	P = 0,773 (passed)	P = 0,940 (passed)	Student's t-test; t = 0.834; gl = 14; p = 0.418
24 °C	1147 ± 29	1355 ± 108	Media ± SdErr	P = 0,375 (passed)	P = 0,093 (passed)	Student's t-test; t = -1.852; gl = 14; p = 0.085

Tabla D4. Valores promedio de fotosíntesis neta máxima (Amax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. aurantiaco-atra*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	Amax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr.	T. Norm.	T. Homoc.	Comparación entre grupos
-4 °C	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.01	Media ± SdErr	P = 0,487 (passed)	P = 0,580 (passed)	Student's t-test; t = -0.360; gl = 14; p = 0.724
3 °C	0.30 ± 0.11	0.35 ± 0.26	Mediana ± IQR	P = 0,287 (passed)	P < 0,050 (failed)	MW Rank Sum Test; U = 28; T = 64; p = 0.721
10 °C	0.48 ± 0.05	0.51 ± 0.08	Media ± SdErr	P = 0,093 (passed)	P = 0,240 (passed)	Student's t-test; t = -0.377; gl = 14; p = 0.712
17 °C	0.43 ± 0.04	0.44 ± 0.08	Media ± SdErr	P = 0,168 (passed)	P = 0,145 (passed)	Student's t-test; t = -0.0829; gl = 14; p = 0.935
24 °C	0.09 ± 0.15	-0.02 ± 0.13	Mediana ± IQR	P < 0,050 (failed)	-	MW Rank Sum Test; U = 19; T = 81; p = 0.195

Tabla D5. Valores promedio de respiración en el óptimo contenido hídrico (DR<sub>opt</sub>,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. aurantiaco-atra*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	DR <sub>opt</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr. ± SdErr	T. Norm. P =	T. Homoc. P =	Comparación entre grupos
-4 °C	-0.11 ± 0.01	-0.15 ± 0.01	Media ± SdErr	P = 0,918 (passed)	P = 0,472 (passed)	Student's t-test; t = 2.625; gl = 14; p = 0.020
3 °C	-0.29 ± 0.03	-0.27 ± 0.03	Media ± SdErr	P = 0,264 (passed)	P = 0,761 (passed)	Student's t-test; t = -0.511; gl = 14; p = 0.617
10 °C	-0.45 ± 0.17	-0.39 ± 0.22	Mediana ± IQR	P < 0,050 (failed)	-	MW Rank Sum Test; U = 24; T = 60; p = 0.442
17 °C	-0.86 ± 0.08	-0.71 ± 0.08	Media ± SdErr	P = 0,679 (passed)	P = 0,814 (passed)	Student's t-test; t = -1.377; gl = 14; p = 0.190
24 °C	-1.46 ± 0.12	-1.23 ± 0.10	Media ± SdErr	P = 0,594 (passed)	P = 0,938 (passed)	Student's t-test; t = -1.478; gl = 1414; p = 0.161

Tabla D6. Valores promedio de respiración en el óptimo contenido máximo (DR<sub>max</sub>,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24 °C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. aurantiaco-atra*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	DR <sub>max</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr. ± SdErr	T. Norm. P =	T. Homoc. P =	Comparación entre grupos
-4 °C	-0.36 ± 0.05	-0.39 ± 0.06	Media ± SdErr	P = 0,819	P = 0,663 (passed)	Student's t-test; t = 0.311; gl = 5; p = 0.768
3 °C	-0.65 ± 0.11	-0.69 ± 0.14	Media ± SdErr	P = 0,792	P = 0,554 (passed)	Student's t-test; t = 0.222; gl = 5; p = 0.833
10 °C	-1.11 ± 0.19	-1.10 ± 0.23	Media ± SdErr	P = 0,131	P = 0,682 (passed)	Student's t-test; t = -0.0570; gl = 5; p = 0.957
17 °C	-1.54 ± 0.29	-1.35 ± 0.30	Media ± SdErr	P = 0,326	P = 0,809 (passed)	Student's t-test; t = -0.464; gl = 5; p = 0.662
24 °C	-2.28 ± 0.46	-1.80 ± 0.25	Media ± SdErr	P = 0,470	P = 0,599 (passed)	Student's t-test; t = -0.825; gl = 5; p = 0.447

Tabla D7. Valores promedio de contenido hídrico óptimo (WCopt, %), contenido hídrico máximo (WC max, %), óptimo de temperatura (Topt, °C) y fotosíntesis neta máxima en el óptimo de temperatura (NPmax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) observados en ejemplares de la especie *U. aurantiaco-atra* procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. antarctica*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

	Localidad		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr.	T. Norm.	T. Homoc.	Comparación entre grupos
WCopt (%)	70.7 $\pm$ 17.4	70.0 $\pm$ 6.6	Mediana $\pm$ IQR	p = 0.941 (passed)	p < 0.050 (failed)	MW Rank Sum Test; U = 21; T = 48; p = 0.755
WCmax (%)	148.4 $\pm$ 6.6	156.0 $\pm$ 6.3	Media $\pm$ SdErr	p = 0.166 (passed)	p = 0.283 (passed)	Student's t-test; t = 0.805; gl = 8; p = 0.444
Topt (°C)	11.9 $\pm$ 0.9	11.2 $\pm$ 1.1	Media $\pm$ SdErr	p = 0.328 (passed)	p = 0.867 (passed)	Student's t-test; t = 0.463; gl = 12; p = 0.652
NPmax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )	0.6 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	Media $\pm$ SdErr	p = 0.482 (passed)	p = 0.094 (passed)	Student's t-test; t = 1.026; gl = 12; p = 0.325

Tabla D8. Valores promedio de los puntos de compensación de luz (PPFDcomp,  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. antarctica*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	PPFDcomp ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr.	T. Norm.	T. Homoc.	Comparación entre grupos
-4 °C	63 $\pm$ 41	59 $\pm$ 7	Mediana $\pm$ IQR	P < 0,050 (failed)	-	MW Rank Sum Test; U = 17 ; T = 38; p = 0.414
3 °C	109 $\pm$ 14	108 $\pm$ 14	Media $\pm$ SdErr	P = 0,063 (passed)	P = 0,723 (passed)	Student's t-test; t = 0.0537; gl = 12; p = 0.958
10 °C	142 $\pm$ 23	137 $\pm$ 15	Media $\pm$ SdErr	P = 0,206 (passed)	P = 0,161 (passed)	Student's t-test; t = 0.144; gl = 12; p = 0.888
17 °C	212 $\pm$ 134	268 $\pm$ 135	Mediana $\pm$ IQR	P < 0,050 (failed)	-	MW Rank Sum Test; U = 18 ; T = 51; p = 0.491
24 °C	519 $\pm$ 91	555 $\pm$ 106	Media $\pm$ SdErr	P = 0,149 (passed)	P = 0,636 (passed)	Student's t-test; t = -0.241; gl = 8; p = 0.816

Tabla D9. Valores promedio de los puntos de saturación de luz (PPFDsat,  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. antarctica*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	PPFDsat ( $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr. $\pm$ SdErr	T. Norm. P = ,320 (passed)	T. Homoc. P = ,673 (passed)	Comparación entre grupos Student's t-test; t = 0.713; gl = 12; p = 0.489
-4 °C	384 $\pm$ 49	336 $\pm$ 41	Media $\pm$ SdErr	P = 0,320 (passed)	P = 0,673 (passed)	Student's t-test; t = 0.713; gl = 12; p = 0.489
3 °C	592 $\pm$ 30	566 $\pm$ 40	Media $\pm$ SdErr	P = 0,630 (passed)	P = 0,982 (passed)	Student's t-test; t = 0.526; gl = 12; p = 0.609
10 °C	638 $\pm$ 57	670 $\pm$ 73	Media $\pm$ SdErr	P = 0,407 (passed)	P = 0,887 (passed)	Student's t-test; t = -0.348; gl = 12; p = 0.734
17 °C	796 $\pm$ 47	853 $\pm$ 48	Media $\pm$ SdErr	P = 0,455 (passed)	P = 0,909 (passed)	Student's t-test; t = -0.838; gl = 12; p = 0.418
24 °C	1336 $\pm$ 413	1031 $\pm$ 109	Mediana $\pm$ IQR	P = 0,837 (passed)	P < 0,050 (failed)	MW Rank Sum Test; U = 10; T = 31; p = 0.081

Tabla D10. Tabla D4. Valores promedio de fotosíntesis neta máxima (Amax,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. antarctica*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	Amax ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr. $\pm$ SdErr	T. Norm. P = ,176 (passed)	T. Homoc. P = ,831 (passed)	Comparación entre grupos Student's t-test; t = -0.887; gl = 12; p = 0.393
-4 °C	0.09 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	Media $\pm$ SdErr	P = 0,176 (passed)	P = 0,831 (passed)	Student's t-test; t = -0.887; gl = 12; p = 0.393
3 °C	0.42 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.04	Media $\pm$ SdErr	P = 0,217 (passed)	P = 0,759 (passed)	Student's t-test; t = 1.323; gl = 12; p = 0.211
10 °C	0.54 $\pm$ 0.07	0.52 $\pm$ 0.07	Media $\pm$ SdErr	P = 0,117 (passed)	P = 0,583 (passed)	Student's t-test; t = 0.231; gl = 12; p = 0.821
17 °C	0.53 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.06	Media $\pm$ SdErr	P = 0,923 (passed)	P = 0,063 (passed)	Student's t-test; t = 1.240; gl = 12; p = 0.239
24 °C	0.05 $\pm$ 0.12	0.23 $\pm$ 0.07	Media $\pm$ SdErr	P = 0,232 (passed)	P = 0,343 (passed)	Student's t-test; t = -1.203; gl = 12; p = 0.252

Tabla D11. Valores promedio de respiración en el óptimo contenido hídrico ( $DR_{opt}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) observados a las distintas temperaturas estudiadas (-4, 3, 10, 17, y 24°C) en ejemplares procedentes de Livingston y Navarino de la especie *U. antarctica*, y resultados del análisis comparativo entre ambas localidades.

Temp.	$DR_{opt}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )		Estadística			
	Isla Livingston	Isla Navarino	M. Centr. $\pm$ SdErr	T. Norm. P = , (passed)	T. Homoc. P = , (passed)	Comparación entre grupos
-4 °C	-0.11 $\pm$ 0.01	-0.08 $\pm$ 0.02	Media $\pm$ SdErr	P = 0,157 (passed)	P = 0,668 (passed)	Student's t-test; t = -1.013; gl = 12; p = 0.331
3 °C	-0.28 $\pm$ 0.03	-0.23 $\pm$ 0.02	Media $\pm$ SdErr	P = 0,702 (passed)	P = 0,131 (passed)	Student's t-test; t = -1.226; gl = 12; p = 0.244
10 °C	-0.50 $\pm$ 0.06	-0.40 $\pm$ 0.05	Media $\pm$ SdErr	P = 0,207 (passed)	P = 0,601 (passed)	Student's t-test; t = -1.209; gl = 12; p = 0.250
17 °C	-0.92 $\pm$ 0.10	-0.61 $\pm$ 0.07	Media $\pm$ SdErr	P = 0,717 (passed)	P = 0,248 (passed)	Student's t-test; t = -2.453; gl = 12; p = 0.030
24 °C	-1.64 $\pm$ 0.20	-0.88 $\pm$ 0.09	Media $\pm$ SdErr	P = 0,114 (passed)	P = 0,187 (passed)	Student's t-test; t = -3.075; gl = 12; p = 0.010

